

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

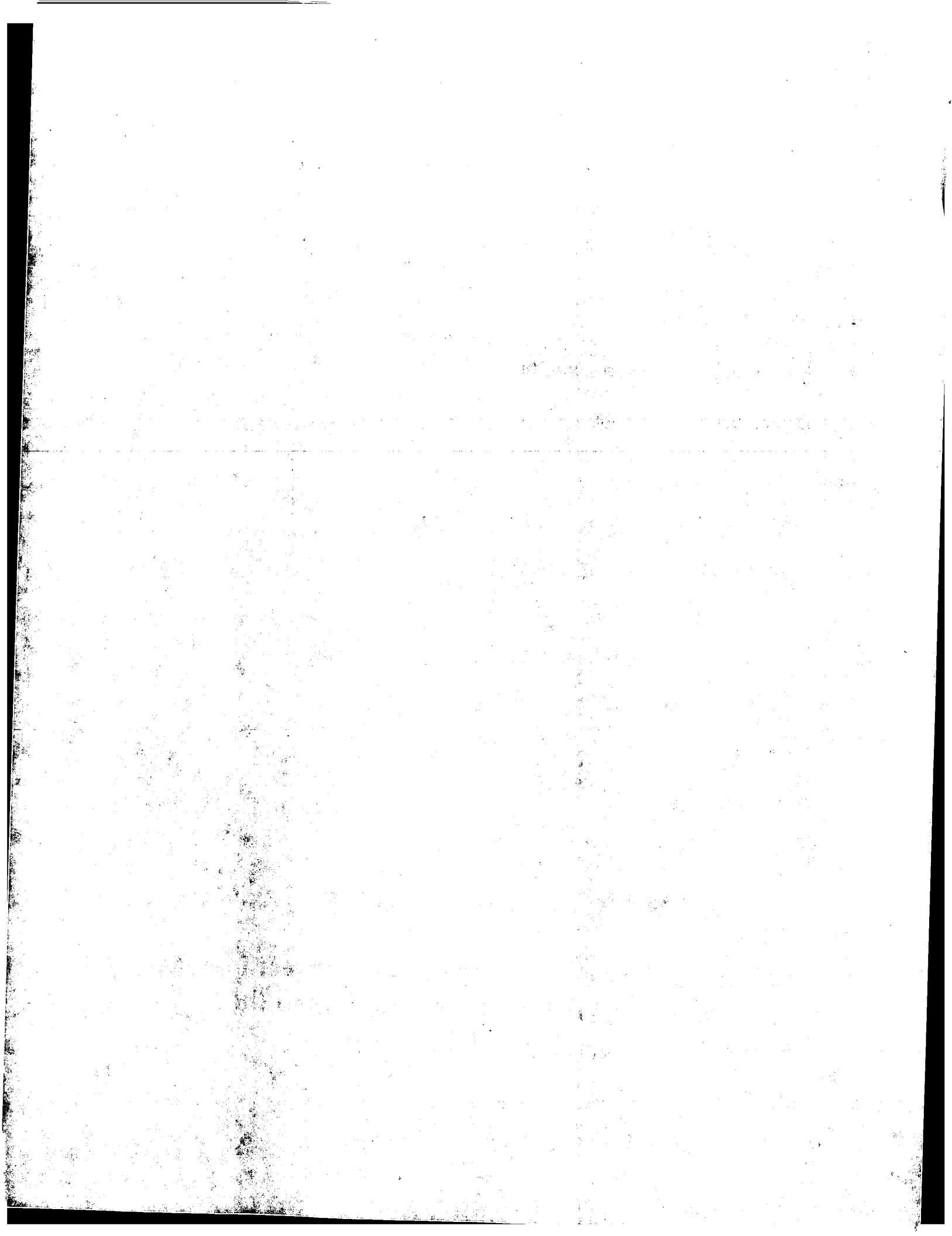
Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

## **IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



091095, 95

William K. Wissing  
Senior Patent Attorney

Novartis Corporation  
Patent & Trademark Dept.  
564 Morris Avenue  
Summit, NJ 07901-1027



Tel (908) 522-6942  
Fax (908) 522-6955  
Internet: kentwissing  
@group.novartis.com

August 2, 1999

Re: US 09/095,915: Case 4-20017/A/PCT/CONT

Examiner MacMillan,

I apologize for the informality here, but under the circumstances and as you and I had discussed, I wanted to get this into your hands prior to your substantive examination. The reference should be cited as:

Hahn, Biodegradable Tensides (1988) (Translation)

I also have provided the original text for the file.

Also as we discussed, should you believe that there are any issues to discuss relative to the enclosed or the IDS 1449 filed recently in this case, please contact me at 908-522-6942 to discuss prior to issuing an office action.

Thank you for your time and consideration in this matter.

Respectfully,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Kent Wissing".

W. Kent Wissing

99 AUG 6 AM 9:59

TECH CENTER 1500/2900  
RECEIVED



Re: US 09/095,915: Case 4-20017/A/PCT/CONT

Examiner MacMillan,

I apologize for the informality here, but under the circumstances and as you and I had discussed, I wanted to get this into your hands prior to your substantive examination. The reference should be cited as:

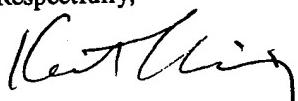
Hahn, Biodegradable Tensides (1988) (Translation)

I also have provided the original text for the file.

Also as we discussed, should you believe that there are any issues to discuss relative to the enclosed or the IDS 1449 filed recently in this case, please contact me at 908-522-6942 to discuss prior to issuing an office action.

Thank you for your time and consideration in this matter.

Respectfully,



W. Kent Wissing

65 AM 9:59  
99 AUG -6 99  
SEARCHED INDEXED  
SERIALIZED FILED  
SEP 1 6 2000 2900



# **BIOABBAUBARE TENSIDE**

**INAUGURALDISSERTATION**  
zur  
**Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie**  
**vorgelegt der**  
**Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät**  
**der Universität Basel**

von  
**LORENZ HAHN**  
aus Reichenburg (SZ)

**BASEL, 1988**  
**ECONOM-DRUCK AG, BASEL**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
auf Antrag der  
Herren Professoren Dr. H. Sucker und Dr. B. Leuenberger.**

**Basel, den 16. Februar 1988**

**Prof. Dr. G. Schatz**

**Dekan**

**Gewidmet in Dankbarkeit meinen Eltern und Geschwistern.**

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Sucker in der Abteilung für Pharmazeutische Forschung und Entwicklung der Firma SANDOZ AG in Basel durchgeführt in der Zeit vom Januar 1986 bis Januar 1988.

Bei der Firma SANDOZ AG bedanke ich mich für die Doktorandenstelle, die Benützung der modernen Infrastruktur und das grosszügige zur Verfügung stellen von Gebrauchs- und Verbrauchsmaterial während zwei Jahren.

Mein besonderer Dank richtet sich an Herrn Prof. Dr. H. Sucker für die Übernahme des Korreferates sowie die wegweisenden Diskussionen und die speditive Durchsicht des Entwurfes. Vor allem die Beurteilung der Resultate und die wertvollen Anregungen haben wesentlich zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beigetragen.

Bei Herrn Prof. Dr. H. Leuenberger möchte ich mich für die Übernahme des Referates bedanken.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern in der Abteilung für Pharmazeutische Forschung und Entwicklung, und dort insbesondere jenen der Gruppe Flüssige Formen, danke ich für die ausgezeichnete Zusammenarbeit in freundschaftlicher Atmosphäre.

Bei Frau D. Muller und Frau A. Oberrieder bedanke ich mich für die Reinschrift ab meinem Manuskript, bei Herrn Dr. W. Langer und seinen Mitarbeitern in der Abteilung Chemische Entwicklung Pharma für die synthetisierten Cholesterinhalbester und Zuckerester und bei Frau Dr. D. Giron für die Analyse der Fettsäurenzusammensetzung der Zuckerester. Herrn Dr. S. Bantle danke ich für die Einführung in die Lichtstreumessung und das zur Verfügung stellen des Gerätes. Bei Frau Dr. O. Wagner, Frau Dr. E. Abisch und Herrn Dr. J. Vonderscher sowie ihren Mitarbeitern bedanke ich mich für die bereitwillige Durchführung der Tierversuche.

Der Firma Gattefossé, F-Saint-Priest, gilt mein Dank für die Synthese von Polyglycerinestern und der Firma BASF Aktiengesellschaft, D-Ludwigshafen, für die Synthese von ethoxilierten Fettsäureestern.

Mein herzlicher Dank richtet sich an meine Eltern für ihre verständnisvolle Unterstützung während meiner Ausbildungszeit.

**INHALTSÜBERSICHT**

- A ZUSAMMENFASSUNG**
  - B INHALTSVERZEICHNIS**
  - C EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG**
  - D THEORETISCHER TEIL**
  - E EXPERIMENTELLER TEIL**  
**VERSUCHE, ERGEBNISSE UND DISKUSSION**
  - F ABSCHLIESSENDE BEURTEILUNG**
  - G LITERATURVERZEICHNIS**
  - H ANHANG**
- LEBENSLAUF**

### A. Zusammenfassung

In Wasser schwerlösliche Wirkstoffe können zur intravenösen Applikation mizellar solubilisiert werden. Dazu werden in der Praxis als Solubilisatoren häufig polyethoxilierte Fettsäuren und Fettsäureester, insbesondere das ethoxilierte Ricinusöl, verwendet. Die Klasse der Ethylenoxidhaltigen Tenside ist toxikologisch nicht unbedenklich, generell wegen des möglichen Restgehaltes an carcinogenem Ethylenoxid und die zur Injektion verwendeten Tenside wegen des anaphylaktoiden Schocks.

Aus den verschiedenen Tensidklassen wurde eine Auswahl an möglichen Ersatztensiden getroffen, die frei von Ethylenoxid sind. Das Hauptaugenmerk wurde dabei auf die hydrophilen Tenside gelegt, die als Solubilisatoren geeignet sind.

Zunächst wurde versucht, solche Tenside zu prüfen, die Cholesterin als lipophilen Tensidteil besitzen und deren hydrophiler Teil z.B. Dicarbonsäuren sein sollten. Ihre Synthese bereitete dem Auftragslabor aber unüberwindliche Schwierigkeiten und es wurde Einvernehmen erzielt, Fettsäuren als lipophile Komponente zu verwenden. Saccharose und Raffinose erwiesen sich als genügend hydrophile Moleküle, um mit mittelkettigen Fettsäuren wasserlösliche Ester zu bilden. An verschiedenen Tensiden aus den Klassen der Cholesterinhalbester, Zuckerester, Polyglycerinester, Seifen, Acylcarnitine und Ethylenoxidaddukte wurde der Einfluss verschiedener Tensidmolekülstrukturen auf die Wasserlöslichkeit, die Hämolyseaktivität und Solubilisierkapazität untersucht.

In einem Hämolysetest, der die Konzentration des Tensids und das Zeitverhalten mit einbezog, zeigten die Zuckerfettsäureester *in vitro* im Vergleich zu ethoxiliertem Ricinusöl stärkere hämolytische Aktivität. Durch Zusatz von Serumalbumin konnte die Hämolyseaktivität vermindert werden. Diese Feststellung führte zu der Hypothese, dass die Hämolyse nicht durch Osmose, sondern durch ein spezifisches Herauslösen von Proteinen aus der Erythrozytenmembran erfolgt.

Die CMC von Saccharosemonolaurat und seiner Solubilisatlösung mit Ciclosporin wurde mit den Methoden der Solubilisation, der Oberflächenspannungs- und Lichtstreumessung bestimmt und miteinander verglichen. Für die reine Tensidlösung wurde mittels Oberflächenspannung und Lichtstreuung eine CMC von 0,01 % in Übereinstimmung mit der Literatur ermittelt. Für die Solubilisatlösung wurde mittels Lichtstreuung eine CMC von 0,005 % und aus der Grenzkonzentration der Solubilisierung dagegen von 0,12 % gefunden.

IV

Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie wurde auf ihre Eignung als Methode zur Bestimmung des HLB-Wertes verschiedener Tenside geprüft. Mit dieser Methode war die Bestimmung nur für homologe Reihen strukturähnlicher Tenside möglich. Als ein wenig aufwendiges und apparativ anspruchsloses Verfahren, das sich auf alle amphiphilen Stoffe anwenden liess, bewährte sich eine validierte Bestimmungsmethode, die auf dem Vergleich mehrerer Emulsionen verschiedener Tensidgemische - Prüftensid plus Span<sup>R</sup> 85 - beruhte.

Für Ciclosporin als Modellsolubilisat erwiesen sich die wasserlöslichen Zuckertettsäureester als gute Solubilisatoren. Saccharosemonolaurat besitzt die doppelte Solubilisierkapazität von ethoxiliertem Ricinusöl. Sterile Ciclosporin-solubilisatlösungen waren am Hund besser verträglich als solche mit Cremophor<sup>R</sup> EL. Als einziger Befund wurde eine Rotfärbung des Urins als Zeichen einer tolerierbaren Hämolyse beobachtet. Die Zuckertester sind biologisch vollständig abbaubar und in Lebensmitteln als Hilfsstoffe ohne Mengenbeschränkung zugelassen. Ciclosporin fiel aus Solubilisatlösungen mit Zuckertestern nach dem Autoklavieren partiell aus. Daher ist eine Keimfiltration als Sterilisationsmethode notwendig.

Mit Ciclosporin und Saccharosemonolaurat konnten erstmals feste Mizellare Lösungen hergestellt werden, mit deren Hilfe Solubilisate auch in festen Arzneiformen verarbeitet werden können. Im Falle von Ciclosporin war dieses nach peroraler Applikation an der Ratte sogar besser als die Handelslösung bioverfügbar. Darüberhinaus wurde das Emulgiervermögen von Saccharosefettsäureestern untersucht und mit dem von Seifen verglichen.

**B. Inhaltsverzeichnis**

C EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	Seite
1 Übersicht über Möglichkeiten, schwerlösliche Wirkstoffe in wässrigen Medien intravenös applizierbar zu machen	1
1.1 Molekülgestaltung	1
1.1.1 Salzbildung	1
1.1.2 Hydrophiler Molekülrest	1
1.2 Organische Lösungsmittel	1
1.3 Kolloidsysteme	2
1.3.1 Nichtstabile Kolloidsysteme	2
1.3.2 Stabile Kolloidsysteme	2
1.4 Komplexbildung	3
1.4.1 Cyclodextrin	3
1.4.2 Hydrotrope Substanzen	3
2 Problemstellung	4
3 Anforderungen an den Solubilisator	5
D THEORETISCHER TEIL	
1 Tenside	6
1.1 Definition	6
1.2 Eigenschaften	6
1.3 Einteilung	7
1.3.1 Nach chemischer Struktur	7
1.3.2 Nach Anwendung	8
1.3.3 HLB-Wertsystem	8
1.4 Überblick über in der Pharmazie verwendbare Tenside	8
2 Bioabbaubarkeit von Tensiden	10
2.1 Biologischer Abbau und Reinigung tensidhaltiger Abwasser	10
2.2 Biologischer Abbau in vivo	10
3 Das mizellare Solubilisieren	11
3.1 Die Mizelle	11
3.1.1 Definition	11
3.1.2 Mizellbildung	11
3.1.3 Thermodynamik der Mizellbildung	12
3.1.4 Mizellbildungs-Modelle	12
3.2 CMC	13
3.2.1 Definition	13
3.2.2 Einflussfaktoren auf die CMC	13
3.3 Mizellform und Grösse	15
3.3.1 Formen	15
3.3.2 Grösse von Mizellen, Mizellmolekulargewicht	17
3.3.3 Einflussfaktoren auf Mizellform und Mizellgrösse	18
3.3.4 Methoden zur Bestimmung der Mizellform und Mizellgrösse	18
3.3.5 Molgewichtsverteilung von Mizellen	20
3.4 Flüssigkristalle	20
3.5 Solubilisation in Mizellen	21
3.5.1 Definition	21
3.5.2 Mikroemulsion	22
3.5.3 Thermodynamik bei der Solubilisation	23
3.6 Mechanismus der Solubilisation	23
3.7 Das Solubilisat in der Mizelle	24
3.7.1 Ort der Solubilisation	24
3.7.2 Bestimmungsmethoden	25

3.7.3	Stabilität des Solubilisates in der Mizelle	26
3.8	Cosolubilisation	26
3.8.1	Definition und Mechanismus	26
3.8.2	Cosolubilisatoren	27
3.9	Solubilisatoren	27
3.10	Phasendiagramm von Solubilisatlösungen	28
3.11	Herstellungsmethoden einer Solubilisatlösung	29
3.12	Tenside zur Bi verfügbarekeitsbeeinflussung	29
4	HLB-System	30
4.1	Definition	30
4.2	Bestimmungsmethoden	32
4.2.1	Rechnerische Methoden	32
4.2.2	Experimentelle Methoden	33
5	Planung und Entwurf eines Solubilisators	36
5.1	Lipophile Molekülteil	36
5.2	Hydrophile Molekülteil	37

## E EXPERIMENTELLER TEIL

1	Synthese von Zuckerestern	38
1.1	Synthesemöglichkeiten für Saccharosefettsäureester	38
1.2	Umesterung der Fettsäremethylester	38
1.3	Synthese der Zuckerester bei CEP	39
2	Synthese von Polyglycerinestern	40
2.1	Methode	40
2.2	Synthese von Polyglycerinestern durch die Firma Gattefossé	40
3	Herstellung von Seifen	41
3.1	Herstellung von Natrium- und Kaliumricinoleat	41
3.2	Herstellung von 12-Hydroxistearinsäure-Natriumsalz	41
3.3	Herstellung von Threo-9,10-Dihydroxistearinsäure-Natriumsalz	41
4	Synthese von Cholesterinhalbestern	41
4.1	Cholesterinhemioxalat	41
4.2	Cholesterinhemisuccinat-Natriumsalz	42
5	Analytik der Zuckerester	42
5.1	Haupt- und Nebenprodukte	42
5.1.1	Hauptprodukte	42
5.1.2	Nebenprodukte	42
5.2	Analytische Methoden für die Hauptproduktbestimmung	42
5.2.1	Reinheit der Fettsäuren	43
5.2.2	Monoesteranteil	43
5.3	Diskussion	43
6	Löslichkeit von Tensiden	44
6.1	Hydratbildung und Löslichkeit	44
6.2	Lipophiler Molekülteil	44
6.2.1	Zuckerester	44
6.2.2	Seifen	44
6.2.3	Ethylenoxid-Tenside	47
6.3	Hydrophiler Molekülteil	47
6.3.1	Zuckerester	48
6.3.2	Ethylenoxid-Tenside	48
6.3.3	Polyglycerinester	49

7	<b>CMC der Tensidlösungen</b>	50
7.1	<b>Bestimmungsmethoden</b>	50
7.1.1	<b>Berechnung</b>	50
7.1.2	<b>Oberflächenspannungsmessung</b>	50
7.1.3	<b>Solubilisationsmethode</b>	50
7.1.4	<b>Lichtstreuemessung</b>	51
7.2	<b>CMC der reinen Tensidlösung von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup></b>	51
7.3	<b>CMC der Solubilisatlösung</b>	51
7.4	<b>Diskussion</b>	53
8	<b>HLB-Bestimmung</b>	55
8.1	<b>Bestimmung mit HPLC</b>	55
8.1.1	<b>Aufgabe</b>	55
8.1.2	<b>Prinzip</b>	55
8.1.3	<b>Wahl des Systems und der Tenside</b>	55
8.1.4	<b>Cholesterinderivate</b>	57
8.1.5	<b>Tween<sup>R</sup>-Produkte</b>	60
8.1.6	<b>Stearinsäurederivate</b>	63
8.1.7	<b>Diskussion</b>	65
8.2	<b>Bestimmung mit Emulsionsvergleichsmethode</b>	67
8.2.1	<b>Prinzip</b>	67
8.2.2	<b>Erforderlicher HLB des Öles</b>	68
8.2.3	<b>Wahl der Substanzen und Methodenvalidierung</b>	68
8.2.4	<b>Bestimmungen mit der validierten Methode</b>	69
8.2.5	<b>Diskussion</b>	70
9	<b>Hämolysetest</b>	71
9.1	<b>Bedeutung der Hämolyse</b>	71
9.2	<b>Bestimmung der Hämolyseaktivität</b>	72
9.2.1	<b>Prinzip</b>	72
9.2.2	<b>Testmethode</b>	72
9.2.3	<b>Diskussion</b>	75
10	<b>Einfluss der Tensidmolekülstruktur auf die Hämolyseaktivität</b>	76
10.1	<b>Untersuchte Tenside und ihre Hämolyseaktivität</b>	76
10.2	<b>Interpretation der Resultate</b>	79
10.2.1	<b>Polyethoxilierte Fettsäuren</b>	79
10.2.2	<b>Polyethoxilierte Sorbitanfettsäureester</b>	79
10.2.3	<b>Etheraddukte</b>	79
10.2.4	<b>Zuckerester</b>	80
10.2.5	<b>Seifen</b>	80
10.2.6	<b>Polyglycerinester</b>	80
10.2.7	<b>Vergleich der Hämolyseaktivität von Fettsäuretensiden unterschiedlicher hydrophiler Reste</b>	80
10.2.8	<b>Blutdenaturierung</b>	81
10.3	<b>Diskussion</b>	82
11	<b>Hämolyseverminderung</b>	83
11.1	<b>Mechanismus der Hämolyse</b>	83
11.2	<b>Verminderung der Hämolyse von Saccharosemonolaurat durch Proteinzußatz</b>	84
11.3	<b>Verminderung der Hämolyse von Saccharosemonolaurat durch Mischmizellen</b>	84
11.4	<b>Diskussion</b>	85

12	Solubilisierkapazität von Mischmizellen	86
12.1	Bestimmung der Solubilisierkapazität	86
12.1.1	Bestimmungsmethoden	87
12.1.2	Eigene Bestimmungsmethode	88
12.1.3	Diskussion	88
12.2	Solubilisierkapazität von Mischmizellen	88
12.2.1	Mischmizellen	89
12.2.2	Herstellung der Mischmizellen	89
12.2.3	Solubilisierkapazität von Mischmizellen in Saccharose-monolauratlösungen	89
12.2.4	Diskussion	90
12.3	Solubilisierkapazität im Verhältnis zur Tensidkonzentration	90
12.3.1	Bestimmungen für verschiedene Tenside	91
12.3.2	Interpretation der Resultate	94
12.3.3	Diskussion	96
12.4	Einflussfaktoren auf die Solubilisierkapazität	96
12.4.1	Temperatur	99
12.4.2	Herstellungsart	99
12.4.3	Solubilisate	100
12.4.4	Tensidkonzentration	101
12.4.5	Tensidstruktur	103
12.4.6	Grösse und Form der Mizellen	105
12.4.7	Zusammenfassung und Diskussion	105
13	Zuckerfettsäureester als Solubilisatoren	106
13.1	Toxikologie der Zuckerester	106
13.1.1	Biologischer Abbau	106
13.1.2	Perorale Anwendung	106
13.1.3	Anwendung auf der Haut	106
13.1.4	Intravenöse Anwendung	107
13.2	Zuckeresterlösungen i.v. am Hund	107
13.3	Ciclosporinsolubilisat i.v. am Hund	107
13.4	Viskosität von Saccharoseestern	110
13.5	Diskussion	113
14	Polyglycerinester als Solubilisatoren	114
14.1	Toxikologie der Polyglycerinester	114
14.2	Decaglycerinmonolaurat i.v. am Hund	114
14.3	Diskussion	114
15	Saccharosefettsäureester und Seifen als Emulgatoren	115
15.1	Saccharoseester als Emulgatoren	115
15.1.1	Emulsionen mit Saccharoseestern	116
15.1.2	Diskussion	118
15.2	Seifen als Emulgatoren	119
15.2.1	Emulsionen mit Natriumoleat und Natriumricinoleat	119
15.2.2	Diskussion	121
16	Lichtstremessungen von Saccharosemonolauratlösungen mit Ciclosporin	121
16.1	Methode	121
16.2	Bestimmung der CMC	121
16.2.1	CMC von Saccharosemonolaurat L-1695 <sup>R</sup>	121
16.2.2	CMC der Solubilisatlösung	124
16.3	Einfluss des Solubilisates auf die Mizellgrösse	126
16.4	Diskussion	128

17	Feste Mizellare Lösungen	129
17.1	Definition	129
17.2	Herstellung	129
17.2.1	Auflösungsverfahren	129
17.2.2	Röntgenstrukturanalyse	130
17.3	Galenische Form zur Bioverfügbarkeitsverbesserung	130
17.4	Diskussion	131
18	Ausfall von Ciclosporin	132
18.1	Ausfall von Ciclosporin aus Tensidlösungen	132
18.2	Probleme in der Praxis	133
18.2.1	Autoklavieren	133
18.2.2	Stabilität	133
18.3	Antimikrobielle Behandlung von Solubilisatlösungen mit Ciclosporin und Saccharosemonolaurat	133
F	ABSCHLIESSENDE BEURTEILUNG	135
G	LITERATURVERZEICHNIS	138
H	ANHANG	152
1	Tabellen	152
1.1	Hämolyseaktivität	152
1.1.1	Hämolyseaktivität verschiedener Tenside	152
1.1.2	Hämolyseverminderung durch Proteinzußatz	157
1.1.3	Hämolyse durch Mizellen oder Tensidmonomere	157
1.2	Solubilisierkapazitäten verschiedener Tenside bei verschiedenen Konzentrationen	158
1.3	Viskositätsmessungen	162
1.3.1	Saccharosemonolaurat L-1695 <sup>R</sup>	162
1.3.2	Saccharosemonomyristat M-1695 <sup>R</sup>	163
1.4	Lichtstreumessungen	163
2	Verwendete Substanzen	164
2.1	Modellsolubilisate	164
2.1.1	Ciclosporin	164
2.1.2	Guajazulen	165
2.1.3	p-Hydroxibenzoesäuremethylester	165
2.1.4	Isradipin	165
2.1.5	Progesteron	166
2.1.6	Proquazon	166
2.2	Tenside	167
	LEBENSLAUF	174

## C. Einleitung und Problemstellung

Die pharmazeutische Forschung bringt laufend neue Wirkstoffe hervor. Um erste klinische Resultate gewinnen zu können, müssen die neuen Wirkstoffe in flüssiger Form am Tier und später an freiwilligen Probanden appliziert werden können. Die Bedeutung des Lösens schwerlöslicher Wirkstoffe in wässrigen Medien hat zugenommen. Vermehrt steht der Galeniker vor dem Problem, neue Substanzen in eine flüssige Form zu bringen, die ohne Bedenken intravenös appliziert werden kann.

### 1. Übersicht über Möglichkeiten, schwerlösliche Wirkstoffe in wässrigen Medien intravenös applizierbar zu machen

Für pharmazeutische Wirkstoffe bieten sich die folgenden Möglichkeiten an:

#### 1.1. Molekülgestaltung

##### 1.1.1. Salzbildung

Auf synthetischem Wege kann aus einem schwachen Säure- oder Basenwirkstoffmolekül ein Salz hergestellt werden, das durch Dissoziation in Lösung geht.

##### 1.1.2. Hydrophiler Molekülrest

Ein Wirkstoffmolekül kann kovalent mit einem hydrophilen Molekülrest in seiner Wasserlöslichkeit verbessert werden [1]. Das Verfahren ist allerdings nur in beschränktem Maße anwendbar, da hierbei durch Veränderung der chemischen Struktur der Substanz oftmals pharmakologische Wirkungsänderungen auftreten [2]. Bei Wirkstoffen mit nicht ausreichender Wasserlöslichkeit bei erforderlicher parenteraler Applikation bietet sich die Entwicklung eines Prodrugs an. Es wird dabei so vorgegangen, dass eine im Wirkstoff vorhandene funktionelle Gruppe mit einer geeigneten hydrophilen Verbindung umgesetzt wird, die dann im Organismus wieder abgespalten wird.

#### 1.2. Organische Lösungsmittel

In Wasser schwerlösliche Arzneistoffe, also lipophile Substanzen, können in organischen Lösungsmitteln in Lösung gebracht werden. In der Pharmazie eignen sich nur solche organische Lösungsmittel, die mit Wasser mischbar sind. Für intravenös zu applizierende Formen bieten sich mehrere Lösungsmittel an [3] [4] [5], von denen sich das Glycerin, das 1,2-Propylenglykol (in einer Konzentration  $\leq 15\%$  [6]), die flüssigen Polyethylenglykole (in einer Konzentration  $\leq 15\%$  [6]) sowie Ethanol bewährt haben.

### 1.3. Kolloidsysteme

#### 1.3.1. Nichtstabile Kolloidsysteme

##### Emulsionen

Der Wirkstoff wird in einem lipophilen Lösungsmittel oder Öl gelöst und mit Hilfe eines Emulgators im Wasser emulgiert [7] [8] [9] [10] [11]. Die Emulsionströpfchen dienen als Arzneistoffträger.

##### Liposomen

Die Liposomen, welche spontan bei der Auflösung von bestimmten Phospholipiden in Wasser entstehen, können in ihren konzentrischen Lipiddoppelschichten Fremdmoleküle einlagern [12] [13]. Sie sind in der Lage, eine Trägerfunktion auszuüben und gewannen deshalb an Aktualität für das Drug Targeting [14] [15] [16].

##### Suspensionen

Eine Suspension ist ein System, das aus einer Flüssigkeit besteht, in der kleine feste Wirkstoffteilchen möglichst gleichmäßig verteilt sind. Die Flüssigkeit ist die äussere, kontinuierliche Phase, die festen Teilchen sind die disperse, innere Phase, die in der äusseren Phase nicht oder nur schwer löslich ist [17]. Mit den Hydrosolen [18] [19] steht eine Suspensionsform zur Verfügung, die intravenös appliziert werden kann.

#### 1.3.2. Stabile Kolloidsysteme

##### Mizellen

Mizellen sind Assoziationskolloide, die sich in Wasser aus amphiphilen Substanzen spontan bilden [20]. Die Mizellen können Fremdmoleküle solubilisieren. Mit Hilfe der mizellaren Solubilisation gelingt es, einen in Wasser schwerlöslichen Wirkstoff in eine klare Lösung zu bringen [8] [21] [22] [23] [24] [25] [26].

##### Mischmizellen

Mischmizellen bestehen aus verschiedenen amphiphilen Substanzen, z.B. Gallensäure und Lecithin [15] [27] [28] [29] [30] [31]. Mit Hilfe von Mischmizellen kann es gelingen, die Hämolyseaktivität eines Tensids zu vermindern [15] [22] [32].

#### 1.4.1. Cyclodextrin

Die gut wasserlöslichen  $\beta$ -Cyclodextrinetherderivate vermögen Fremdmoleküle durch Bildung von Einschlusskomplexen in Lösung zu bringen [33].

#### 1.4.2. Hydrotrope Substanzen

Durch die Verwendung hydrotroper Stoffe entstehen in Wasser zusammen mit dem schwerlöslichen Stoff gut lösliche Komplexe [2] [34]. Substanzen wie z.B. Harnstoff, Glycerin, Sorbit, Glucose, Salze oder N-Methylacetamid, bauen die Wasserstruktur um die hydrophobe Gruppe eines schwerlöslichen Stoffes ab und bewirken die Steigerung seiner Löslichkeit über einen strukturbrechenden Effekt [19] [23] [26] [35] [36] [37] [38]. Kreutzkamp [39] nannte sie auch molekulardisperse Lösungsvermittler. Es resultiert eine echte Lösung, jedoch sind Lösungsvermittlerkonzentrationen von 20-30 % notwendig. Die früher viel verwendeten Urethane sind wegen ihrer Mutagenität nicht mehr verantwortbar.

## 2. Problemstellung

In der pharmazeutischen Technologie kommt der Mizellaren Solubilisation bei der Formulierung intravenös applizierbarer Formen große Bedeutung zu. Die Mizellbildner zeigen ihrer Grenzflächenaktivität wegen Wirkungen auf die Erythrozytenmembran und die Gewebe. Dies führt zu Unverträglichkeiten *in vivo* [9] [24]. Beim z.Zt. allgemein gebräuchlichen polyethoxilierten Ricinusöl (Crem-phor<sup>R</sup> EL) als universellen Solubilisator wurden *in vivo* anaphylaktische Schockreaktionen festgestellt, die konzentrationsabhängig sind [3] [22] [40] [41] [42]. Diese anaphylaktoiden Reaktionen wurden den Ethylenoxideinheiten im Tensidmolekül zugeschrieben. Ziel dieser Arbeit war es daher, zunächst die S-lubilisierung nicht polyethylenglykolhaltiger Tenside zu prüfen und dann nach dem Auffinden mehrerer potentiell möglicher Verbindungen nach definierten Auswahlkriterien, z.B. der guten Verträglichkeit *in vivo*, zu selektionieren, eventuell zu optimieren.

### 3. Anforderungen an den Solubilisator

Der neu zu entwickelnde Solubilisator zur intravenösen Applikation soll dem folgenden Anforderungsprofil entsprechen [3] [15] [24]:

- **Physikalische Eigenschaften:**

Die zu applizierende Solubilisatorlösung darf nicht zu dickflüssig sein, um ohne grosse Schwierigkeiten mit einer feinen Nadel aufgezogen und injiziert werden zu können. Die Keimfiltration soll möglich sein.

- **Gute systemische Verträglichkeit:**

Der Solubilisator darf keine pharmakologische Eigenwirkung entfalten.

- **Gute lokale Verträglichkeit:**

Die Injektionen sollen möglichst wenig Schmerzen verursachen. Die biologischen Strukturen sollen bei intravenöser und intramuskulärer Injektion nicht beschädigt werden.

- **Keine Ethylenoxideinheiten im Tensidmolekül enthalten.**

- **Geringe Hämolyseaktivität zeigen.**

- **Schnelle und vollständige Freisetzung:**

Der solubilisierte Stoff soll in seiner Wirksamkeit durch die mizellare Lösung nicht beeinträchtigt werden.

- **Hohe Solubilisierkapazität:**

Um möglichst viel Wirkstoff lösen zu können, soll wenig Hilfsstoff eingesetzt werden müssen.

- **Biologisch abbaubar:**

Der Solubilisator darf im Körper nicht kumulieren und muss in nützlicher Frist eliminiert oder zu unschädlichen Produkten abgebaut werden können.

- **Gute Stabilität bei der Herstellung und Lagerung:**

Der Solubilisator darf sich in Lösung bei den in der Praxis vorkommenden Lagertemperaturen möglichst nicht verändern und soll autoklavierbar sein [43].

- **Gute Mischbarkeit:**

Eine konzentrierte Solubilisatlösung muss mit Wasser in jedem Verhältnis mischbar sein, ohne dass der solubilisierte Stoff ausfällt.

- **Chemische Verträglichkeit:**

Der Solubilisator darf keinerlei unerwünschte Reaktionen oder Veränderungen mit dem zu solubilisierenden Wirkstoff oder anderen Bestandteilen der Lösung eingehen.

Als schwerlöslicher Wirkstoff diente unter anderen vor allen das Ciclosporin als Modellsubstanz (Abschn. H. 2.1.1.). Es ist auf dem Weltmarkt erhältlich unter dem Markennamen Sandimmun<sup>R</sup>. Die Infusionskonzentratlösung enthält Cremophor<sup>R</sup> EL als Solubilisator [6] [44].

## D. Theoretischer Teil

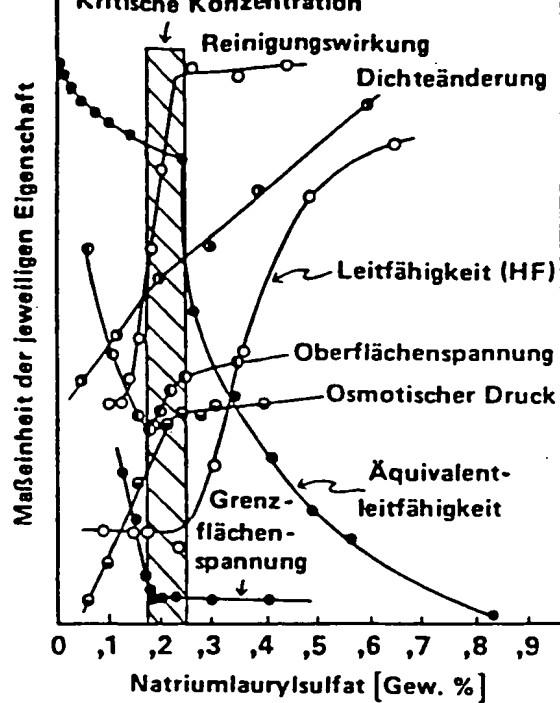
### 1. Tenside

#### 1.1. Definition

Tenside sind grenzflächenaktive Stoffe, deren Molekül einen lipophilen Rest – meist einen Kohlenwasserstoffrest mit Alkyl- und/oder Arylkomponenten – und eine hydrophile Gruppe aufweisen. Durch ihren amphiphilen Aufbau reichern sich die Tensidmoleküle in der Oberfläche ihrer Lösungen und an flüssigen und festen Grenzflächen an [19] [21]. Die Bezeichnung Tenside ist nicht gleichbedeutend mit der Bezeichnung Detergentien [45]. Letztere sind Waschmittel, die unter anderem Tenside enthalten.

#### 1.2. Eigenschaften

Bei wässrigen Tensidlösungen ändern sich Eigenschaften wie Oberflächen- und Grenzflächenspannung, elektrische Leitfähigkeit, Viskosität, osmotischer Druck, Dichte, Reinigungswirkung, Äquivalentleitfähigkeit etc. nicht proportional der Konzentration. Mit steigender Gesamtkonzentration an amphiphiler Substanz erhöht sich auch deren Konzentration in der Luft/Wasser-Grenzfläche. Schliesslich wird ein Bereich, die CMC (Critical Micelle Concentration) erreicht, in dem sowohl die Grenzfläche als auch die Innenphase gesättigt sind. Jeder weitere Zusatz der amphiphilen Substanz führt dann zur Bildung von Mizellen [8] [45] [46] [47] [48], womit gleichzeitig die freie Energie des Systems verkleinert wird [49]. Welche Wirkung die Mizellbildung auf einige physikalische Eigenschaften von Tensidlösungen hat, zeigt die Abbildung 1.



**Abbildung 1:**

Änderung der physikalischen Eigenschaften im Bereich der CMC. Nach Preston [50].

### 1.3. Einteilung

#### 1.3.1. Nach chemischer Struktur

Aufgrund der chemischen Struktur der amphiphilen Moleküle unterscheidet man anionische, kationische, nichtionische und amphotere Tenside [2] [5] [19] [23] [51].

Im folgenden werden einige Beispiele angeführt:

##### Aniontenside:

Seifen, Alkansulfonate, Olefinsulfonate, Estersulfonate, Alkylarylsulfonate, Alkylsulfate, Ethersulfate, Fettalkoholsulfate, Fettalkoholethersulfate.

##### Kationtenside:

Geradkettige und cyclische Ammoniumverbindungen, Invertseifen, Benzalkoniumchloride und andere quaternäre Ammoniumsalze, Aminsalze, Pyridiniumsalze.

##### Nichtionische Tenside:

Alkylphenolpolyglykolether, ethoxilierte Fettsäuren, Fettsäureamide, Fettamine und Fettalkohole, Fettsäureester von Polyalkoholen.

**Amphotenside:**

Sie vereinigen anionaktive und kationaktive hydrophile Gruppen als Zwitterionen in sich. Glycinderivate mit Betainstruktur, Sulfobetaine.

**1.3.2. Nach Anwendung**

Aufgrund der zahlreichen physikalisch-chemischen Eigenschaften ergeben sich mehrere Anwendungsmöglichkeiten für die Tenside. Ihre Löslichkeit in Wasser oder Öl bestimmt ihre Verwendung als Antischaummittel, W/O-Emulgatoren, Netzer [52], O/W-Emulgatoren, Detergentien und Solubilisatoren. Die Tenside sind auch bedeutungsvoll als Absorptionsverbesserer von Wirkstoffen [22] [38].

**1.3.3. HLB-Wertsystem**

Das HLB-Wertsystem wird im Abschn. D. 4. näher erläutert.

**1.4. Überblick über in der Pharmazie verwendbare Tenside**

Ausführliche Zusammenstellungen von in der Pharmazie und Kosmetik gebräuchlichen Tensiden wurden von Fiedler [5] und Janistyn [53] publiziert. Einen grossen Anteil stellen die Tenside mit Ethylenoxideinheiten als hydrophilem Molekülteil [28]. Sie sind preislich billig herstellbar. Bei ihrer Synthese bleiben aber Rückstände (z.B. 1,4-Dioxan [54] und Ethylenoxid) im Produkt zurück, denen eine carcinogene Wirkung zugeschrieben wird [19] [55]. Die Behörden stellen daher immer höhere Anforderungen an die Reinheit der Ethylenoxidtenside. Auch den Aminen werden potentiell carcinogene Eigenschaften zugeschrieben [19] [56] [57]. Aus dem grossen Angebot der zu pharmazeutischen Zwecken verfügbaren Tensiden wurden jene Tensidklassen zusammengestellt, die weder Ethylenoxideinheiten noch Aminstrukturen enthalten. Die Zusammenstellung der unter diesen Kriterien ausgewählten Tensidklassen enthält also solche Tenside, die aufgrund ihrer Molekülstruktur zu pharmazeutischen und kosmetischen Zwecken in naher Zukunft noch bedenkenlos verwendet werden können. Die für die Zusammenstellung getroffene Auswahl sagt nichts über die Verträglichkeit auf der Haut oder bei peroraler Anwendung aus.

**Anionische Tenside**

Seifen

Fettalkoholsulfate

Natriumalkylsulfoacetate

Alkansulfonate

Alkylbenzolsulfonate

Sulfobernsteinsäureester

Fettsäurekondensationsprodukte

Monoglyceridsulfate

~~Sulfat~~ ~~Acetat~~

Gallensalze

Cholesterinhalbester

**Kationische Tenside**

Quaternäre Ammoniumsalze

Acylcarnitine

**Nichtionische Tenside**

Fettsäuremonoglyceride

Fettsäureglykolpartialester

Polyglycerinfettsäureester

Zuckerester

Pentaerythritpartialester

Sorbitanfettsäureester

Zuckerglyceride

Saponine

Fettalkohole

Polyvinylalkoholfettsäureester

**Amphotere Tenside**

Betaine

Imidazolderivate

Sulfobetaine

Lecithine

Proteine

Im Hinblick auf eine mögliche intravenöse Anwendung als Solubilisatoren wurden insbesondere die folgenden Tensidklassen untersucht:

- Zuckerester
- Polyglycerinester
- Cholesterinhalbester
- Seifen
- Acylcarnitine

## **2. Bioabbaubarkeit von Tensiden**

### **2.1. Biologischer Abbau und Reinigung tensidhaltiger Abwasser**

Die Verwendung verschiedener Tenside hat zu bedeutenden Problemen in der Abwasserreinigung geführt. Diese werden hauptsächlich durch ungenügenden biologischen Abbau von Detergentien verursacht. Die Forschungsabteilungen der Waschmittel produzierenden Firmen haben sich intensiv mit dem Abbau der Tenside in der Umwelt auseinandergesetzt [58]. Ein ausführliches Werk über diesen Problemkreis ist kürzlich von Swisher [59] veröffentlicht worden. Die biochemische Abbaufähigkeit von Tensiden ist sehr verschieden. Während beispielsweise biologisch leicht abbaubare Tenside, wie geradkettige Alkylsulfate, durch mikrobiologische Einwirkungen in kürzester Zeit (Stunden bis Tage) aufgespalten und abgebaut werden können, beträgt die entsprechende Zeit für biologisch schwer abbaubare Tenside, wie Alkylbenzolsulfat mit verzweigter Alkylkette und für verschiedene Ethylenoxid-Addukte, mehrere Wochen [28]. Die natürlich vorkommenden Fettsäuren sind überwiegend geradkettig und besitzen eine gerade Zahl von Kohlenstoffatomen. Dies erklärt, warum die Mehrzahl der normalen Bodenbakterien, die für den Abbau der Tenside in Frage kommen, nur geradkettige und geradzahlige Kohlenstoffverbindungen abbauen, während verzweigtkettige oder ungeradzahlige Verbindungen – wenn überhaupt – erheblich langsamer abbaubar sind [45]. Biologisch abbaubare Tenside sind nach DIN 53900 grenzflächenaktive Verbindungen, welche in Gegenwart von Wasser einem biologischen Abbau als Ergebnis der komplexen Einwirkung von Mikroorganismen unterliegen und dadurch ihre charakteristischen Tensid-Eigenschaften verlieren [5]. Als einzige nichtionische, zu 100 % biologisch abbaubare Detergentien und Emulgatoren auf Naturstoffbasis sind die Zuckester geradkettiger aliphatischer Monocarbonsäuren bekannt [60].

### **2.2. Biologischer Abbau in vivo**

Ein in vivo abbaubares Tensid muss durch die Enzyme des Organismus zerlegbar sein. Der Abbau von Tensiden im menschlichen Körper entspricht etwa dem Abbau durch Mikroorganismen [59]. Ester-Tenside sind sowohl peroral als auch parenteral zulässig, nicht aber Ether-Tenside, die im menschlichen Körper nicht gespalten werden können. Ethylenoxidketten vermag der menschliche Körper nicht zu zerlegen [61]. Sie werden unverändert ausgeschieden. Nach der Spaltung der Tenside im Organismus unterliegen die Bestandteile dem Stoffwechsel. Dieser Schritt entspricht der Metabolisierung von Fremdstoffen. Ein Tensid, das im menschlichen Körper zur Anwendung kommen soll, muss in einem ersten Schritt enzymatisch spaltbar sein, damit es seine Tensideigenschaften verliert. In einem nächsten Schritt müssen die Spaltprodukte ohne pharmakologische Eigen-

wirkung und ohne toxische Nebenwirkung vom Körper metabolisiert werden können. Diese Auflage wird von Tensidklassen erfüllt, deren hydrophilen als auch lipophilen Molekülbestandteile im Tier oder im menschlichen Organismus biogen vorkommen [22]. Als hydrophile Tensidreste eignen sich unter diesem Gesichtspunkt verschiedene Polyhydroxiverbindungen (Glyceride, Zucker), Carbonsäure-, Cholin- und Phosphorsäuredervative sowie Aminosäuren.

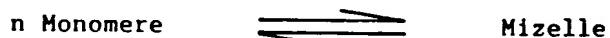
Als lipophile Tensidreste bieten sich die Steroide und die geradkettigen Fettsäuren an. Zur Zeit des 2. Weltkrieges wurden die in der deutschen Fettindustrie bei der Fettsäuresynthese anfallenden Isostearate als mögliche lipophile Reste von Tensiden zur peroralen Anwendung geprüft [62] [63]. Isostearate wurden an Ratten verfüttert und dabei festgestellt, dass diese Verbindungen nicht gespalten wurden und sich im Depotfett einlagerten. Der Organismus höherer Tierarten vermag verzweigte Kohlenstoffketten nicht abzubauen. Aus dem Fett der Tuberkelbakterien konnte eine Fettsäure mit verzweigter Kohlenstoffkette isoliert werden. Simonis [45] zog daraus den Schluss, dass vor allem der menschliche Organismus auf solche Substanzen durch heftige Immunreaktionen reagiert. Die Absicht, Isostearate als lipophile Tensidmolekülreste zu verwerten, wurde fallengelassen.

### **3. Das Mizellare Solubilisieren**

#### **3.1. Die Mizelle**

##### **3.1.1. Definition**

Eine Mizelle ist ein Assoziationskolloid [20] aus amphiphilen Molekülen, das sich in hydrophilem oder lipophilem Milieu spontan bildet [64]. Die Mizellen stehen in einem dynamischen Gleichgewicht [9] [65] [66] [67], das man wie folgt umschreibt [68]:



Über das Assoziationsvermögen verfügen nicht nur Hilfsstoffe wie Tenside, Farbstoffe und Phospholipide, sondern auch Wirkstoffe wie Lokalanästhetika [69], Antihistaminika und Psychopharmaka [70].

##### **3.1.2 Mizellbildung**

###### **Mechanismus**

Setzt man amphiphile Substanzen, die lösliche Monoschichten bilden, einer Flüssigkeit in einer solchen Menge zu, dass sowohl die Grenzschicht als auch die Innenphase in Bezug auf die einzelnen Moleküle gesättigt sind, dann assoziieren die überschüssigen Teilchen zu Mizellen. Sie haben die Dimension von Kolloiden und sind nicht oberflächenaktiv, weil sie ja nicht an der Grenzfläche, sondern in der Innenphase vorkommen. In hydrophilen, polaren

Flüssigkeiten bestehen die Zentren der Mizellen aus den unpolaren, hydrophoben Molekülteilen des die Mizelle bildenden Tensides [67]. Da es sich dabei um die Assoziation gleichartiger Moleküle handelt, spricht man von "reversibler Multimerisation". Eine irreversible Multimerisation wäre eine Aggregation [49].

#### **Umkehrmizellen**

Gibt man ein Tensid in eine lipophile, apolare Flüssigkeit, so bilden sich Mizellen, bei denen die polaren, hydrophilen Molekülteile gegen das Innere der Mizelle gerichtet sind. Diese Mizellen nennt man Umkehrmizellen (reversed micelles) [9] [22] [71]. In dieser Dissertation kommt den Umkehrmizellen keine Bedeutung zu, da in der Pharmazie die Verwendung von Tensiden auf wässrige Flüssigkeiten beschränkt ist.

#### **3.1.3. Thermodynamik der Mizellbildung**

Aus der Kolloidchemie ist bekannt, dass im Innern der Mizellen die hydrophoben Gruppen aneinander liegen und die hydrophilen Gruppen die Oberfläche der Mizelle bilden. So wird die Löslichkeit über starke Hydratbildung mit dem Wasser gewährleistet. Die Assoziation zu Mizellen entspricht einem energetisch günstigen Zustand [8]. Es konnte gezeigt werden, dass die Enthalpie der Mizellbildung sehr klein ist [9]. Die Thermodynamik der Mizellbildung wird heute vor allem durch drei Modelle umschrieben, die hier kurz erwähnt werden sollen. Allen Modellen ist gemeinsam, dass sie Begriffe und Erkenntnisse der klassischen Thermodynamik verwenden.

#### **3.1.4. Mizellbildungs-Modelle**

##### **Masse-Reaktions-Modell**

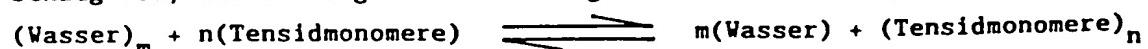
Dieses Modell beschreibt die Mizellen und Monomere als ein Assoziations-/Dissoziations-Gleichgewicht.

##### **Phasentrennungsmodell**

Im Phasentrennungsmodell werden die Mizellen als eigene Phase betrachtet.

##### **Fehlordnungsprozess-Modell**

Aus den thermodynamischen Größen Enthalpie und Entropie geht nach Hüttenrauch [49] hervor, dass die Multimerisation von amphiphilen Monomeren in erster Linie als die Folgeerscheinung eines Fehlordnungsprozesses im Lösungsmittel und nicht als die Realisierung des Assoziationsbestrebens zwischen apolaren Molekülregionen aufzufassen ist. Die treibende Kraft der Mizellisierung schreibt Hüttenrauch dem Lösungsmittel zu und nicht den Tensidmolekülen. Er schlug vor, das Gleichgewicht wie folgt zu umschreiben:



### **3.2. CMC**

#### **3.2.1. Definition**

Denjenigen Konzentrationsbereich, bei dem die Mizellbildung einsetzt, bezeichnet man als kritische Mizellbildungskonzentration. Im Bereich der CMC (Critical Micelle Concentration) ändert sich das Verhalten von physikalischen Eigenschaften der Tensidlösung (Abbildung 1).

Beim Verdünnen der Tensidlösung unter die charakteristische Konzentration zerfallen die Mizellen wieder in monomere Tensidmoleküle. Der Zahlenwert der CMC ist für jedes Tensid charakteristisch und hängt von mehreren Faktoren ab.

#### **3.2.2. Einflussfaktoren auf die CMC**

##### **Lipophile Tensidrest**

###### **Kettenlänge**

Entscheidenden Einfluss auf die CMC hat die Grösse des lipophilen Restes, die im wesentlichen durch die Zahl der C-Atome, d.h. die Kettenlänge gegeben ist. Je grösser die Kettenlänge, desto niedriger liegt die CMC. Der Zusammenhang zwischen CMC und der Kettenlänge wird mit der Traube'schen Regel ausgedrückt [9] [22] [49].

Sie besagt, dass der Logarithmus der CMC mit der Anzahl der C-Atome in der Kette linear herabgesetzt wird.

$$\log (\text{CMC}) = A - B \cdot m \quad (\text{Gleichung 1})$$

A = Konstante der homologen Reihe.

B = entspricht etwa  $\log 2$ .

m = Kettenlänge, ausgedrückt mit der Anzahl C-Atome.

Mit der Traube'schen Regel kann die CMC berechnet werden. Eine andere Formel zur Berechnung der CMC haben Elworthy und Florence [72] publiziert, die wie die Traube'sche Regel auf Daten einer homologen Tensidreihe beruht.

###### **Kettenkonstitution**

Veränderungen in der lipophilen Kette durch Einführen von Doppelbindungen oder hydrophilen Substituenten setzt die Hydrophobie der Alkylkette herab. Die Löslichkeit des Tensides wird so erhöht und die CMC entsprechend heraufgesetzt.

###### **Aromaten**

Die Einführung eines aromatischen Ringes in den lipophilen Rest bewirkt eine Vergrösserung seines Platzbedarfes und damit eine Erhöhung der Oberflächenaktivität und eine Erniedrigung der CMC.

### **Mehrere lipophile Reste**

Infolge der hydrophoben Wechselwirkung werden bei mehrketigen Tensiden die einzelnen Ketten bereits im monomeren Zustand in Kontakt gebracht. Dadurch wird die Kontaktfläche zwischen der Kohlenwasserstoffkette und dem Wasser verkleinert. Dies setzt die Energie herab und erhöht die CMC.

### **Hydrophile Tensidrest**

Nichtionische Tenside haben wesentlich kleinere CMC-Werte als ionische Tenside mit der gleichen hydrophoben Gruppe, wenn die jeweiligen hydrophilen Gruppen vergleichbare Dimensionen haben [24]. Bei den Ethylenoxidtensiden nimmt die CMC mit der Zahl der Ethylenoxideinheiten zu [9] [49].

### **Elektrolytzusatz**

Elektrolytzusatz zur Lösung ionischer Tenside führt infolge der Ionenstärkeerhöhung und der dadurch bedingten Verminderung der elektronischen Abstossung zwischen den Tensidionen zu einer beträchtlichen CMC-Erniedrigung [23]. Die CMC-Werte von nichtionischen Tensiden werden nur wenig vom Elektrolytzusatz verändert, da bereits im System ohne Elektrolyte höchstens schwache elektrostatische Abstossungs Kräfte zwischen den hydrophilen Gruppen herrschen. Der Einfluss des Elektrolyten ist dabei wahrscheinlich auf sekundäre Effekte, wie z.B. Bindung von Wasser zur Ausbildung einer Solvathülle zurückzuführen. Die CMC-Erniedrigung eines Neutraltensids wächst nicht stetig mit der Ionenstärke [9] [22].

### **Temperatur**

Stache [9] erwähnte, dass die Abhängigkeit der CMC von der Temperatur klein sei. Er berichtete, dass bei Temperaturen oberhalb der Raumtemperatur die CMC mit steigender Temperatur zunimmt, bei einer Temperaturerhöhung von 50°C um ca. 30 %. Ekwall und Holmberg [73] konnten ebenfalls zeigen, dass die CMC wenig temperaturabhängig ist.

### **Cosolubilisatorzusatz**

Rao [74] hat festgestellt, dass ein Zusatz von kurzkettigen Alkoholen zu einer Tensidlösung die CMC erhöht. Langkettige Alkohole vermindern die CMC, was mit dem Einbau in die Mizellen erklärt wurde.

### **Solubilisatorzusatz**

Mitchell und Wan [75] untersuchten den Einfluss von Solubilisaten auf die CMC. Sie konnten sowohl Erhöhung als auch Erniedrigung der CMC von ionischen und nichtionischen Tensiden feststellen, abhängig von der Struktur, Art und Konzentration des der Tensidlösung zugesetzten Solubilisates.

### 3.3.1. Formen

Mizellen in Lösung können mit optischen Instrumenten direkt nicht sichtbar gemacht werden [76] [77]. Man muss daher auf Modellvorstellungen zurückgreifen, die mit Thermodynamik-Berechnungen belegt werden können [2]. Die Mizellen sind sehr labile Gebilde, deren Form und Grösse weitgehend von den Versuchsbedingungen abhängen [51]. Die erste Mizellhypothese stammte von Mc Bain [78], der verschiedene Formen der Mizellen in Abhängigkeit von der Konzentration postulierte. Danach haben die Mizellen wenig oberhalb der CMC kugelförmige Struktur, bei weiterer Konzentrationssteigerung erfolgt ein Übergang in zylindrische oder ellipsoidale und schliesslich in laminaire Strukturen [8]. Die Abbildung 2 gibt stark schematisiert die Modellvorstellungen wieder.

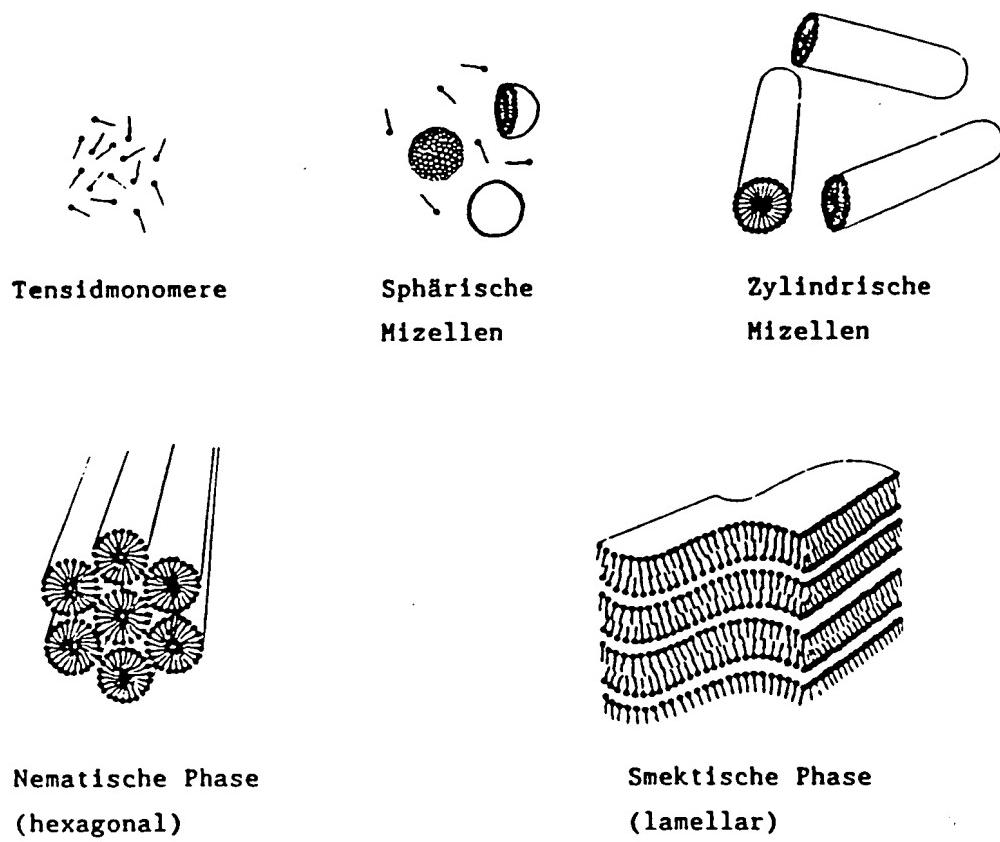


Abbildung 2:

Schematisierte Darstellung von idealisierten Strukturen bei steigender Konzentration des Tensides in Wasser. Nach Corkill und Goodman [79].

In der Wissenschaft besteht noch immer Uneinigkeit, was die Form und Grösse der Mizellen anbetrifft [24]. Eine Reihe experimenteller Ergebnisse, wie Lichtstreumessungen und rheologische Untersuchungen haben gezeigt, dass ein kugelsymmetrisches Mizellmodell alleine mit den erhaltenen Ergebnissen nicht in Einklang zu bringen ist [47]. Die drei meistverwendeten Modelle für die Darstellung der Mizellformen sind die Kugel, die Scheibe und das Stäbchen [46].

Neuerdings wird auch die sogenannte Blockmizelle als Modell herangezogen. Dieses Modell vereinigt die Konzeption einer kugelsymmetrischen Anordnung mit der einer Doppelschicht [20].

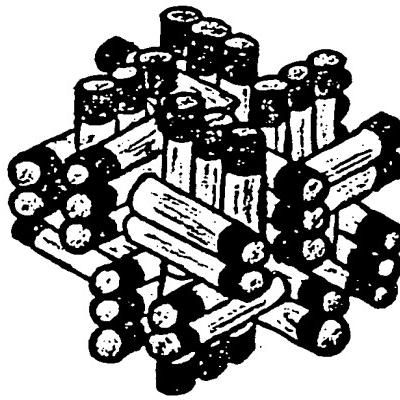


Abbildung 3:

Raumfüllendes Modell der Tensidblock-Struktur (Blockmizelle) nach Fromherz [20].

Alle die hier erwähnten Modelle haben einen grossen Nachteil. Das Wasser, in dem die Mizellbildung ausgelöst wird und abläuft, wird nicht berücksichtigt. Das Wasser hat einen entscheidenden Anteil an der Strukturbildung der Mizellen [47] [49]. Nur selten ist es möglich, ein Tensid zu finden, das mit Wasser selektiv nur einen einzigen Mizelltyp über den ganzen Konzentrationsbereich der Tensidlösung [80] ausbildet.

### 3.3.2. Grösse von Mizellen, Mizellmolekulargewicht

Die Mizellen können aus 50 oder mehr Ausgangsteilchen (Tensidmonomere) bestehen. Mit einem Durchmesser, der in der Größenordnung von 50 Å liegt, werden sie zu den Kolloideteilchen gerechnet [21] [38] [81]. Man nimmt an, dass der Durchmesser einer Mizelle etwa das Doppelte eines vollständig gestreckten amphiphilen Moleküls plus einer Hydratationsschicht von durchschnittlich 1,5 Wassermolekülen beträgt [82]. Abbildung 4 zeigt eine schematische Darstellung von Mizellformen von Triton<sup>R</sup> X-100 (= t-Oktylphenol mit 10 EO-Gruppen) in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration in Wasser. Die Darstellung enthält Größenangaben, die auf geometrischen Berechnungen von Robson und Dennis [83] beruhen.

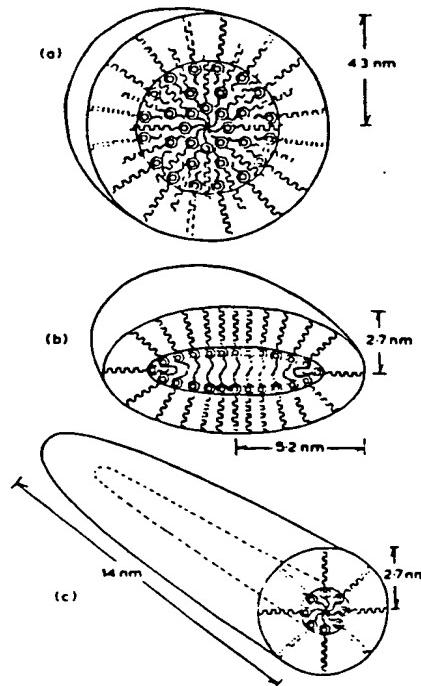


Abbildung 4:

Schematische Darstellung einer (a) Kugelmizelle, (b) ellipsoidförmigen Kugelmizelle und (c) stäbchenförmigen Mizelle von Triton<sup>R</sup> X-100 mit Größenangaben nach Berechnungen von Robson und Dennis [83].

Mizellform und Größen von Gallensalzmizellen wurden von Small [84] publiziert. Mizellmolekulargewichte von Natriumlaurylsulfat und verschiedenen EO-Addukten bestimmte Schmidt [85] mittels Gelchromatographie. Folgende Werte wurden erhalten:

**Tabelle 1:**

Mizellmolekulargewichte verschiedener EO-Addukte, bestimmt mittels Gelchromatographie [85].

EO-Addukt	Mizellmolekulargewicht (korrigiert)
Tween <sup>R</sup> 20	160'000
Tween <sup>R</sup> 40	189'000
Tween <sup>R</sup> 60	177'000 - 183'000
Tween <sup>R</sup> 80	182'000
Brij <sup>R</sup> 35	139'000
Myrij <sup>R</sup> 49	181'000

**3.3.3. Einflussfaktoren auf die Mizellform und Mizellgrösse**

Die Form der Mizelle ist abhängig von der chemischen Struktur des Tensides [80], der Tensidkonzentration [46] und der Temperatur [86].

Die Mizellgrösse ist abhängig von der Art und Länge des lipophilen Tensidmolekülteiles, von der Art des hydrophilen Tensidmolekülteiles, von der Anwesenheit von Zusatzstoffen in der Tensidlösung wie Cosolubilisatoren, Solutabilisate [22], Elektrolyte [49] und der Temperatur [46] [86] [87].

**3.3.4. Methoden zur Bestimmung der Mizellform und Mizellgrösse**

Im folgenden sollen kurz die Methoden vorgestellt werden, die eine Bestimmung von Grösse und Gestalt der Mizellen erlauben. Die einzelnen Methoden lassen sich einteilen in:

**Streuverfahren**

Dazu gehören Licht-, Röntgen- und Neutronenstreumessungen, bei denen die Intensität der von der Lösung gestreuten Photonen oder Neutronen als Funktion der Tensidkonzentration und des Streuwinkels gemessen wird.

Aus den Messungen erhält man das Molekulargewicht und den Trägheitsradius der streuenden Teilchen. Dazu gehört auch die Messung der zeitlichen Schwankung der Intensität des von der Lösung gestreuten Lichtes (dynamische Lichtstreumessungen) [9] [81] [84] [88] [89] [90].

## Ultrazentrifugation

Das Mizellgewicht lässt sich mit Hilfe der Sedimentationsgeschwindigkeit und der Annäherung an das Sedimentationsgleichgewicht in der Ultrazentrifuge bestimmen. Die Ergebnisse unterscheiden sich insofern, als das Sedimentationsgleichgewicht zum exakten Mittelwert führt, während aus der Sedimentationsgeschwindigkeit ein gemischtes Mittel folgt [69] [84] [90].

## Diffusionsmessungen

Den Radius von Cetomacrogol<sup>R</sup>-Mizellen (= Polyethylenglykol-1000-cetylether) berechnete Elworthy [91] mit Hilfe der Stokes-Einstein-Gleichung:

$$r = \frac{R \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot N \cdot D} \quad (\text{Gleichung 2})$$

r = Radius der Mizelle

η = Viskosität des Lösungsmittels

D = Diffusionskoeffizient

R = molare Gaskonstante

T = absolute Temperatur

N = Avogadrosche Zahl (= Loschmidt'sche Zahl)

Elworthy bestimmte den Diffusionskoeffizienten der Tensidlösung.

## Dampfdruckerniedrigung

Elworthy und Macfarlane [46] beschrieben eine Methode, bei der der Dampfdruck über Gelen und konzentrierten Tensidlösungen als Funktion der Tensidkonzentration und derjenigen Konzentration, bei der die Lösung denselben scheinbaren Dampfdruck wie Wasser hat, gemessen wurde. Theoretisch bestimmt man dabei eine Grösse, die der Zahl der gelösten Teilchen proportional ist. Erst die Kenntnis der Loschmidt'schen Zahl und die bekannte Gewichtskonzentration führen zum Molekulargewicht.

## Gelchromatographie

Schmidt [85] wandte die Gelchromatographie mit Sephadex<sup>R</sup> G 100 und G 200 auf azulenmarkierte Tensidmizellen von Natriumlaurylsulfat und von Polyethylen-glykolderivaten an. Standardproteine dienten als Eichsubstanzen [65].

## Farbstoffsolubilisation

Schott [92] [93] beschrieb eine Methode, die auf der Annahme basiert, dass nur ein Molekül des wasserunlöslichen Farbstoffes Orange OT (= 1-o-Tolyl-azo-2-naphthol) pro Mizelle solubilisiert wird. Seine Bestimmungsmethode gilt nur für bestimmte Tenside. Die Methode der Farbstoffsolubilisation zur Bestimmung der Mizellgrösse ist keine absolute Methode.

## **Viskosität**

Cuby und Elwathy [94] zeigten, dass aus Viskositätsmessungen in verschiedenen Tensidsystemen auf die Mizellform und Grösse geschlossen werden kann. Pontell [95] hat diese Methode zur Bestimmung der Mizellform von Gallensalzmizellen verwendet. Müller-Goymann [77] untersuchte mit Viskositätsmessungen den Einfluss von Solubilisaten auf die Mizellformen.

Von diesen hier aufgezählten Bestimmungsmethoden der Mizellform und Mizellgrösse hat sich das Streuverfahren durchgesetzt. Mit dieser Bestimmungsmethode können in kurzer Zeit gut reproduzierbare Werte direkt ermittelt werden. Als Nachteil sei der hohe Preis einer Streulichtmessapparatur erwähnt. Die anderen Bestimmungsmethoden sind entweder keine absoluten Methoden oder zu arbeitsaufwendig oder können nur auf bestimmte Tenside angewandt werden.

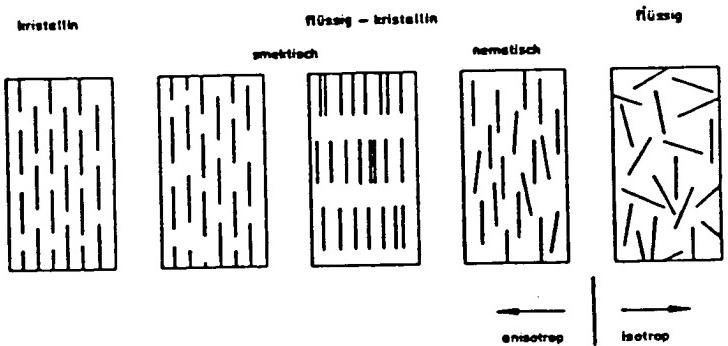
### **3.3.5. Molgewichtsverteilung von Mizellen**

Bei allen Methoden zur Molekulargewichtsbestimmung kann man nur von monodispersen Substanzen ein einheitliches Molekulargewicht erwarten. Polydisperse Substanzen liefern einen Mittelwert. Je nachdem, ob man das Gewicht der Teilchen, wie z.B. bei der Methode der Lichtstreumessung und der Ultrazentrifugation, oder die Zahl der Teilchen, wie bei der Farbstoffsolubilisation und der Dampfdruckniedrigung bestimmt, erhält man bei polydispersen Systemen einen Gewichts- oder Zahlenmittelwert für das Molekulargewicht. Je enger nun die Molgewichtsverteilung ist, desto ähnlicher werden die Werte für den Gewichtsmittelwert und den Zahlenmittelwert. Im Falle des monodispersen Stoffes ist der Gewichtsmittelwert gleich dem Zahlenmittelwert. Aus diesen Überlegungen heraus sollten sich Schlüsse auf die Polydispersität der Mizellen ziehen lassen. Schmidt [65] stellte fest, dass die Mizellen nur eine sehr enge Größenverteilung aufweisen.

### **3.4. Flüssigkristalle**

In wässrigen Tensidsystemen bilden sich flüssigkristalline, mesomorphe Phasen in der Regel bei Konzentrationen weit oberhalb der CMC [24] [47]. Fromherz [20] bezeichnete eine Tensidmizelle wenig oberhalb der CMC als winziges isometrisches Flüssigkriställchen. Diese Flüssigkriställchen bilden in höheren Konzentrationen eine flüssigkristalline Phase, deren definierte Struktur sich anisotrop verhält [49]. Es entstehen lyotrope Flüssigkristalle [96]. In den Mesophasen sind die einzelnen Mizellen noch als solche erkennbar. Die Anordnung der Mizellen erfolgt nach geometrischen Gesichtspunkten in der Art, dass die Abstossung zwischen den einzelnen Mizellen minimal wird, d.h. je nach der Gestalt der Mizellen bilden sich verschiedene Strukturen aus, die höher geraten sind [9]. Zwei Haupttypen von Mesophasen können identifiziert werden: die

nematische Phase und die smektische Phase [19]. Beide Phasen sind in Abbildung 2 dargestellt. Die nematischen Strukturen sind fadenartig, wobei die zylindrischen Mizellen hinsichtlich ihrer langen Achsen parallel zueinander verschiebbar (eindimensional kristalline Ausrichtung) sind, was ihre niedrige Viskosität bedingt. Bei der smektischen Struktur liegen die langgestreckten Mizellen ebenfalls parallel zueinander, doch sind sie in Schichten angeordnet. Sie können sich parallel zueinander bewegen, die Schichtebene jedoch nicht verlassen (zweidimensionale kristalline Anordnung), was erhöhte Viskosität zur Folge hat. Der Existenzbereich der einzelnen Phasen wird als Funktion der Tensidkonzentration in Wasser in einem Phasendiagramm des binären Systems dargestellt [22]. Bei den anisotropen Flüssigkeiten tritt wie bei der Existenz eines Kristallgitters ein relativ scharfer "Schmelzpunkt" auf, bei dem die anisotrope (röntgenkristalline) Flüssigkeit in eine normale, isotrope (röntgenamorphe) Flüssigkeit übergeht. Dies soll mit der Abbildung 5 verdeutlicht werden.



**Abbildung 5:**  
Klassifizierung des flüssigkristallinen (mesomorphen) Zustandes. Aus [49].

Mit den flüssigkristallinen Phasen von Zuckerestern hat sich Jeffrey [97] eingehend beschäftigt.

### 3.5. Solubilisation in Mizellen

#### 3.5.1. Definition

Als Solubilisation im engeren Sinne wurde von Merril und Mc Bain [98] ein Spezialfall der Lösungsvermittlung bezeichnet, nämlich die Löslichkeitserhöhung eines Stoffes durch Assoziationskolloide. Sie bilden in wässriger Lösung geordnete Assoziate aus einer Vielzahl gleichartiger Moleküle, die sogenannten Mizellen. Durch Einlagerung des zu lösenden Stoffes in diese

Mizellen kommt es zu einer Erhöhung der Wasserlöslichkeit. Dieser Vorgang wird als Solubilisation bezeichnet. Mit dieser Definition ist eine Abgrenzung gemacht zu den hydrotropen Substanzen (Abschn. C. 1.4.2.), die die Löslichkeit eines wasserunlöslichen Stoffes durch Komplexbildung erhöhen, dabei aber keine Mizellen bilden [26].

Ein Solubilisat erhöht nach Münzel [38] die Wasserlöslichkeit eines Stoffes ohne sichtbare chemische Umsetzung. Die Mizellare Solubilisation beruht darauf, dass die amphiphilen Stoffe in Lösung Mizellen ausbilden und die sonst schwerlöslichen Moleküle durch Anlagerung oder Einlagerung in diese Mizellen in kolloidale Lösungen übergeführt werden. Die Solubilisation ist also an das Vorhandensein von Mizellen gebunden. Bei amphiphilen Stoffen kann manchmal bereits unterhalb der CMC eine Verbesserung der Wasserlöslichkeit einer lipophilen Substanz beobachtet werden. Es handelt sich dabei aber nicht um eine Solubilisierung im eigentlichen Sinne. Die Definition der Solubilisation trifft nicht zu auf Fälle, in denen gelöste amphiphile Moleküle teilweise in assoziierter Form vorliegen, die Existenz von Mizellen aber nicht exakt nachgewiesen werden kann.

In der Literatur werden noch eine ganze Reihe anderer Bezeichnungen wie Hydro-tropie (Abschn. C. 1.4.2.), Cosolubilisation (Abschn. D. 3.8.) und Blending [23] für den Vorgang der Lösungsvermittlung im weiteren Sinne gebraucht [8]. Rohdewald [26] hat sie zusammengefasst und gegeneinander abgegrenzt.

### 3.5.2. Mikroemulsion

Im Zusammenhang mit der Solubilisation eines flüssigen Stoffes durch amphiphile Substanzen (Tenside) muss der Begriff "Mikroemulsion" deutlich vom System eines mizellar solubilisierten Stoffes unterschieden werden. Gerbacia und Mitarbeiter [29] haben diesen Unterschied mit Hilfe der Thermodynamik gezeigt. Auch Harris [23] hat darauf hingewiesen, dass bei der Solubilisation keine Mikroemulsion vorliegt.

Mikroemulsionen bestehen in der Regel aus vier Komponenten [7] [8] [9] [22]: der zu emulgierenden Substanz, dem Wasser, dem Emulgator oder Emulgatormischung und einem Cosolubilisator (Abschn. D. 3.8.2.). Eine trübe Emulsion von Benzol in einer wässrigen Kaliummoleatlösung wird z.B. durch Zusatz eines Alkohols als Cosolubilisator klar. Seib [8] erläuterte, wie aus einer kolloidalen Lösung eines mizellar solubilisierten flüssigen schwerlöslichen Stoffes eine Mikroemulsion entsteht. Durch Vergrößerung des Mizellvolumens wird so viel Solubilisat aufgenommen, dass es nicht nur zu einer Wechselwirkung des aufgenommenen hydrophoben Stoffes mit dem hydrophoben Teil des Tensides kommt, sondern dass es ganze tensidfreie Räume innerhalb der Mizelle gibt, in denen es nur zu einer hydrophoben Wechselwirkung zwischen den unpolaren Solubilisatmolekülen kommt. Die Solubilisatmoleküle liegen in der Mizelle ungeordnet,

also nicht kristallin vor. Derartige "Emulsionen" können gebildet werden, wenn Tensid-Grenzflächenfilme von mittelkettigen (~ C 6) Alkoholen durchdrungen werden. Die sich ergebende molekulare Wechselwirkung bewirkt, dass der Oberflächenfilm eine scharfe Krümmung einnimmt, d.h. dass es zur Ausbildung feinster nicht sichtbarer Tröpfchen kommt. Die Tröpfchen sind von einer gemischten monomolekularen Schicht aus dem Tensid und dem C solubilisat r umhüllt. Man kann sie daher auch als gequollene Mischmizellen auffassen.

Friberg [11] beschrieb die Herstellung einer Mikroemulsion aus einer Emulsion durch Zugabe eines mittelkettigen Alkohols. Die Tröpfchen sind dann so klein, dass sie mit optischen Mitteln nicht mehr sichtbar sind. Die Mikroemulsionen sind transparent und können bei Aufstossen des Behältnisses auf eine harte Unterlage Resonanzerscheinungen zeigen. Bhargava [7] gab die Tröpfchengrösse in Mikroemulsionen mit 100 Å bis 1000 Å an.

Aus einer Mizellaren Solubilisatlösung mit einem festen Stoff als Solubilisat entsteht bei Übersättigung mit dem festen Solubilisat keine Mikrosuspension. Nicht mehr solubilisierte Festsubstanz sedimentiert und es liegt eine mit Solubilisat gesättigte mizellare Solubilisatlösung vor [10].

### 3.5.3. Thermodynamik bei der Solubilisation

Solubilisation tritt ein, wenn die Bindungsenergien zwischen den Kohlenwasserstoffketten der Tensidmoleküle kleiner sind als die Hydratbindungen. Organische Substanzen können dann in die Kohlenwasserstoffbereiche der Mizellen eindringen. Die Ketten können sich auseinanderschieben und werden aufgebläht. Es entstehen Strukturen allmählich quellender Mizellen [47]. Gerbacia und Mitarbeiter [29] berechneten die freie Energie beim Übergang des schwerlöslichen Stoffes aus der wässrigen Umgebung in die Mitte einer Mizelle. Mukerjee [99] berechnete die Verteilung eines Solubilisates in der Mizelle.

### 3.6. Mechanismus der Solubilisation

Die meisten Autoren stimmen darin überein, dass sich die Moleküle solubilierter Verbindungen einheitlich ausgerichtet in den Mizellen befinden. Über die Art des Lösungsmechanismus, ob sich die Substanz an der Oberfläche, zwischen den Palisaden oder in der Mizelle befindet, bestehen Unklarheiten [34]. Einen massgeblichen Einfluss auf den Solubilisationsmechanismus übt die chemische Natur des Solubilisates aus [100]. Shaeivitz [101] beschrieb den Solubilisationsmechanismus eines festen Solubilisates mit fünf Schritten. In einem ersten Schritt diffundieren Tensidmonomere und Mizellen an die Stoffoberfläche (1) und adsorbieren dort (2). Es findet dann eine Reaktion zwischen den Tensidmolekülen und dem lipophilen Stoff statt, wobei ein Assoziat gebildet wird (3). Das Assoziat desorbiert von der Oberfläche (4) und diffundiert in die Tensidlösung (5). Diese fünf Schritte sind eine nichtstöchiometrische Paral-

lele zum Mechanismus, der für eine Gas-Feststoff Interaktion postuliert wird. Diese Ansicht vertraten auch Klevens [102] und O'Malley [103]. Das Solubilisat wird im nichtpolaren Zentrum der Mizelle aufgelöst oder aber in der Palisadenschicht der Mizelle adsorbiert [5]. Kedvessy [34] nahm an, dass die Moleküle der schlecht wasserlöslichen Verbindung bei der Solubilisation nicht nur an der Oberfläche der im Innern der Flüssigkeit entstandenen Mizellen adsorbiert bzw. in die Mizellen eingebaut werden, sondern dass auch das an der Grenzfläche Flüssigkeit-Gas entstandene filmartige, monomolekulare Assoziat solubilisierten Stoff enthält. Dieser Film besteht demnach aus Wasser, dem Tensid und dem Solubilisat. Der Solubilisatgehalt in der Schicht an der Flüssigkeits-Grenzfläche ist im Verhältnis zur gesamten Flüssigkeitsmenge natürlich gering. Kedvessy traf diese Annahme, weil er feststellte, dass die den Tween<sup>R</sup>-Lösungen zugesetzten Modellsolubilisate Phenobarbital und Chloramphenicol die Oberflächenspannung der Solubilisatlösungen herabsetzen, obwohl diese Modellsolubilisate selber nicht oberflächenaktiv waren. Diese Annahme von Kedvessy wurde in der Literatur nicht bestätigt. Riegelman und Mitarbeiter [104] haben festgestellt, dass bei den von ihnen untersuchten Tensiden mit einer lipophilen Molekülkette von C 12 die Mizellen diejenige Lösungsmittelaktivität zeigen, die einer gesättigten organischen Lösungsmittellösung aus einem Lösungsmittel mit C 12 - C 24 entspricht. Über eine Beteiligung der H-Brückenbindung beim Solubilisierungsvorgang berichteten Rohdewald [26] und Seib [8]. Bei den aus der Mizellgrenzfläche herausragenden Ethylenoxidketten kann es zu Solubilisierungen durch Wasserstoffbrückenbindungen an den Ethersauerstoffen kommen. Die hydrophoben Stoffe verdrängen von der hydratisierten Ethylenoxidkette einige Wassermoleküle, um deren Platz in der geknäuelten Kette einzunehmen.

### 3.7. Das Solubilisat in der Mizelle

#### 3.7.1. Ort der Solubilisation

Einen massgeblichen Einfluss auf den Ort der Solubilisation übt die chemische Natur des Solubilisates aus [22] [100] [105]. Die hydrophoben Verbindungen sollen im Innern oder in der Palisadenschicht der Mizellen eingeschlossen und damit gelöst sein [75] [106]. Nach Ullmann und Mitarbeiter [107] werden hydrophobe Arzneistoffe wie Salicylsäurephenylester im Kohlenwasserstoffkern von Mizellen eingelagert. Dies konnten sie mit UV-Messungen nachweisen. Bei Solubilisierversuchen in Lösungen von Polyethylenglykolen mit unterschiedlicher Länge der Ethylenoxidkette haben Mitchell und Wan [75] den Ort der Solubilisation für Benzaldehyd in der Region der Ethylenoxideinheiten festgestellt, während p-Methylbenzaldehyd verteilt zwischen dem Mizellzentrum und den Ethylenoxideinheiten vorliegt. Tokiwa [108] berichtete, dass bei Ethylenoxidten-

siden ein wasserunlöslicher Farbstoff sowohl im Kohlenstoffketten Teil als auch im Ethylenoxidkettenteil der Mizelle solubilisiert wird. Dies konnten Mukerjee [105] [109] und Corby [94] mit verschiedenen Benzoesäurederivaten belegen. Mukerjee sprach den Ethylenoxideinheiten eines Tensidmoleküles Lösungsmittelleigenschaften zu [99]. Der polare Teil eines Solubilisatmoleküles tritt dort in Wechselwirkungen mit dem polaren Teil des Tensidmoleküles. Gerbacia und Mitarbeiter [29] untersuchten mit Hilfe der UV-Messmethode den Solubilisationsort von Benzol, das in Mischmizellen aus Kaliumoleat und 1-Pentanol solubilisiert vorlag. Sie lokalisierten die Solubilisation des Benzols im lipophilen Zentrum der Mischmizelle. Obwohl in vielen Fällen ein bestimmter Solubilisationsort vom Solubilisat bevorzugt wird, darf angenommen werden, dass ein Fließgleichgewicht zwischen eingeschlossenem Solubilisat und freiem Wirkstoff in der Lösung besteht [110]. Abbildung 6 zeigt zusammengefasst die möglichen Einlagerungsorte eines Solubilisates in der Mizelle.

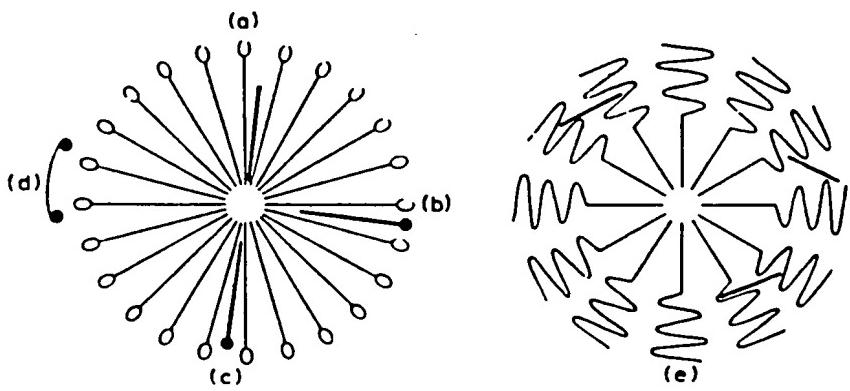


Abbildung 6:

Mögliche Orte der Solubilisation in der Mizelle:

- (a) im lipophilen Zentrum; (b) mehrheitlich in der polaren Region der Palisadenschicht; (c) in der Tiefe der Palisadenschicht; (d) adsorbiert an der Mizelloberfläche, schematisiert dargestellt nach Riegelman [104]. (e) zeigt die Einlagerung von Solubilisat in der Ethylenoxidschicht der Mizelle eines nichtionischen Tensids. Aus [22].

### 3.7.2. Bestimmungsmethoden

Für die Bestimmung der Lokalisation eines Solubilisates in der Mizelle bieten sich folgende Methoden an: die UV-Absorptionsspektrophotometrie, Röntgenstrahldiffraction, NMR-Messungen, Fluoreszenzdepolarisationsmessung und die Messung der Elektronen-Spin-Resonanz [22]. Für Solubilisate mit einem Chromo-

phor hat die Messung der Absorptionsspektren Bedeutung erlangt. Das Absorptionsspektrum einer Substanz im ultravioletten Bereich unterliegt verschiedenartigen Einflüssen. Veränderungen sind beispielsweise möglich durch physikalisch-chemische Eigenschaften verschiedener Lösungsmittel. Auch der Einschluss in eine Mizelle kann als ein Lösungsmittelleffekt gedeutet werden. Der Vergleich der Spektren eines Stoffes in unterschiedlich polaren organischen Lösungsmitteln und in mizellärer Lösung erlaubt Aussagen über seine Lokalisation innerhalb der Mizelle [29] [75] [94] [104] [107] [109].

### **3.7.3. Stabilität des Solubilisates in der Mizelle**

Die Stabilität von solubilisierten Substanzen gegenüber chemischen Prozessen wie Autoxidation und Hydrolyse ist ein wichtiger Aspekt in der Arzneimittelformulierung mit Hilfe der mizellären Solubilisation. Übersichtsarbeiten zu diesem Problemkreis wurden von Svarbrick [24] und Florence [125] zusammengestellt. Von Interesse ist die Tatsache, dass über eine Solubilisierung die Labilität sauerstoffempfindlicher Stoffe zum Teil aufgehoben wird bzw. dass durch Zugabe von solubilisierenden Tensiden die Stabilität von Wirkstoffen verbessert werden kann [9]. Die mizellare Umgebung ist für einen solubilisiert vorliegenden Stoff unterschiedlich zum wässrigen Milieu, so dass Reaktionsunterschiede erwartet werden können. Riegelman [111] untersuchte den Effekt von Tensiden auf die Hydrolyserate von Estern. Er verwendete eine homologe Reihe von alkalistabilen nichtionischen Tensiden sowie kationische und anionische Tenside. Er fand, dass die Hydrolyserate der Ester in den nichtionischen Tensiden sich mehr in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration ändert als von der Länge der Ethylenoxidketten. Er stellte fest, dass Hydrolyse sowohl in der Mizelle als auch in der wässrigen Phase stattfindet. Anionische und kationische Tenside stabilisierten das Solubilisat vor basenkatalysierten Reaktionen. Die Mizellen stellen für das Solubilisat keinen absoluten Schutz vor chemischen Reaktionen dar, da das Solubilisat dauernd aus der Mizelle heraus in die Lösung und wieder zurück diffundiert. Die Mizellen sind keine starren Gebilde. Schliesslich unterliegen die Tenside selbst einer Autoxidation [43].

## **3.8. Cosolubilisation**

### **3.8.1. Definition und Mechanismus**

Die Mizellbildung und demzufolge auch die Solubilisation werden durch verschiedene Faktoren beeinflusst [25]. Für die Steigerung der Solubilisationsfähigkeit von Tensiden durch nichtionische, nicht-oberflächenaktive Stoffe wurde von Hüttenrauch [112] die Bezeichnung Cosolubilisation eingeführt. Den Mechanismus der Cosolubilisation im System Wasser, Tensid, Cosolubilisator und Solubilisat führte Hüttenrauch [36] auf vier verschiedene Effekte zurück:

- (1) Indirekte Lyophobierung der Mizellen (Desolvatation). Der Cosolubilisator setzt die Solvation der Tensidmoleküle herab und fördert deren Selbstassoziation. Die CMC nimmt ab.
- (2) Partielle Substitution der Tensidmoleküle in den Mizellen. Der Cosolubilisator wird an Stelle von Tensidmolekülen in die Mizelle eingebaut. Die CMC wird erniedrigt. Die Mizellgröße bleibt fast unverändert.
- (3) Vergrößerung des Mizellvolumens (Mizellquellung). Der Cosolubilisator wird zusätzlich in die Mizellen eingebaut. Die CMC bleibt konstant.
- (4) Verfestigung der Mizelle (Mizellvernetzung). Der Cosolubilisator wird in die Palisadenschicht der Mizelle aufgenommen und führt zu einer Vernetzung der Tensidmoleküle. Die CMC bleibt konstant.

Die Effekte treten nicht getrennt auf. Durch Einbau der Cosolubilisatormoleküle in die Palisadenschicht der Mizelle entstehen Mischmizellen [74] [112]. Eine Solubilisatlösung mit einem Solubilisator und einem Cosolubilisator kann eine Mikroemulsion (Abschn. D. 3.5.2.) darstellen. Der Begriff der Cosolubilisation darf nicht mit dem englischen Begriff "cosolvency" verwechselt werden. Nach Rohdewald [26] liegt eine "cosolvency" dann vor, wenn ein Stoff in der Mischung zweier Lösungsmittel löslicher ist als in einem der beiden Lösungsmittel alleine.

### 3.8.2. Cosolubilisatoren

Nach Hüttenrauch [112] sind die Cosolubilisatoren nichtionische Stoffe, die nicht oberflächenaktiv sind, jedoch einen hydrophilen und einen lipophilen Molekülteil aufweisen. Zu den Cosolubilisatoren zählt er Polyole wie Glycerin, Sorbitol, Saccharose und Glucose [36] sowie die Polyethylenglykole. Diesen Substanzen wird auch in Abwesenheit von Tensiden eine lösungsvermittelnde Eigenschaft zugeschrieben, indem sie für einen schwerlöslichen Stoff ein Lösungsmittel darstellen (Abschn. C. 1.2.) oder als hydrotrope Substanz (Abschn. C. 1.4.2.) wirken. Diese Stoffe gehören deshalb zu den Lösungsvermittlern im weiteren Sinne [5]. Stache [9] nannte die Cosolubilisatoren auch Kotenside.

### 3.9. Solubilisatoren

Die Solubilisatoren sind Lösungsvermittler im engeren Sinne [19]. Rohdewald [26] machte eine Zusammenstellung der Abgrenzungen gegenüber den anderen Lösungsvermittlergruppen. Ein Tensid kann nur dann als Solubilisator wirken, wenn es in Wasser vollständig oder teilweise löslich ist. Ein nur teilweise wasserlösliches Tensid stellt für einen lipophilen Stoff einen Solubilisator dar, wenn die Solubilisierkapazität der Mizellen nicht bereits durch solubilisierte schwer wasserlösliche Tensidmoleküle erschöpft ist.

Werden zwei verschiedene Solubilisatoren in Wasser gelöst, so entstehen Mizellen (Abschn. E. 12.2.1.). Nowak [113] konnte zeigen, dass Mischungen von Tensiden für bestimmte Substanzen ein geringfügig besseres Solubilisiervermögen aufweisen als die in der Mischung enthaltene beste Komponente.

### 3.10. Phasendiagramm von Solubilisatlösungen

Unter Phase werden Bezirke gleicher physikalischer und chemischer Eigenschaften verstanden, die von einer anderen Phase des Systems durch definierte Grenzen getrennt und mechanisch abtrennbar sind. An der Phasengrenzfläche ändern sich die physikalischen und chemischen Eigenschaften sprunghaft. Die Existenzbereiche von Phasen in Solubilisatlösungen werden schematisch dargestellt durch zweidimensionale Phasendiagramme [22]. Phasengleichgewichte in ternären Systemen werden meist mit dreieckigen Phasendiagrammen dargestellt. Es erlaubt, die beste Kombination der drei Komponenten für klare isotrope Solubilisatsysteme zu ermitteln. O'Malley und Mitarbeiter [103] untersuchten mit Hilfe der Wassertitration die solubilisierende Wirkung von Tween<sup>R</sup> 20 für Pfefferminzöl in Wasser. Ihre Ergebnisse stellten sie in einem Phasendiagramm dar wie es Abbildung 7 zeigt. Dabei zeigt sich, dass sich bei fortlaufender Zugabe von Wasser zu einer 50:50-Mischung von Pfefferminzöl und Tween<sup>R</sup> 20 zunächst eine homogene Mischung ergibt (Zone I), die dann in ein viskoses Gel übergeht (Zone II). Fügt man noch mehr Wasser zu, so bildet sich wieder eine klare Lösung (Zone III), die sich in zwei Schichten trennt (Zone IV). All diese Phasen würden so durchlaufen werden, wenn ein Pfefferminzölkonzentrat im Fabrikationsmassstab verdünnt werden müsste.

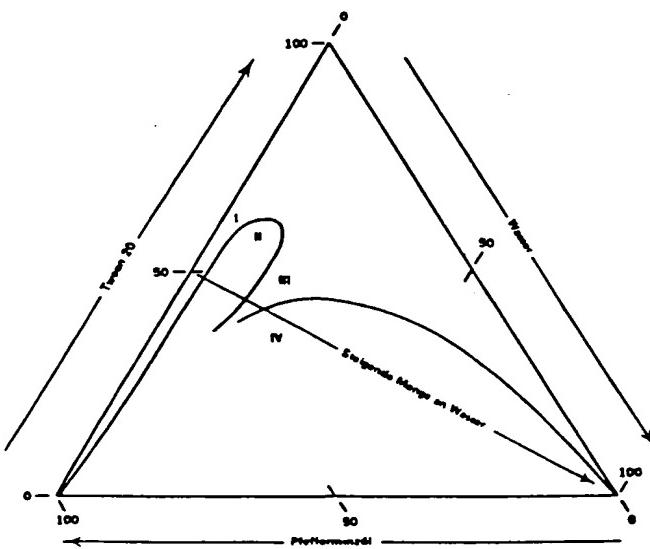


Abbildung 7:

Phasendiagramm für das ternäre System Wasser, Tween<sup>R</sup> 20 und Pfefferminzöl.

Elworthy und Mitarbeiter [114] verwendeten das Dreiecksphasendiagramm zur Angabe der Solubilisierkapazität eines Tensides. Yousef [115] ermittelte mit Hilfe eines Phasendiagrammes die Tensidmenge, die zur Solubilisation von Chloramphenicol nötig war.

Englisch [116] [117] präsentierte eine neue Methode zur Charakterisierung und Identifizierung von Tensiden mittels Phasendiagrammen. Die Methode lieferte durch Darstellung der Eigenschaften verschiedener Mischungsverhältnisse von ternären Systemen aus Solubilisator, der lipophilen Testsubstanz Methylsalicylat und Wasser mittels vereinfachter Dreiphasendiagramme für bestimmte Tenside charakteristische und reproduzierbare Kurvenbilder.

Phasendiagramme von Mikroemulsionen haben Bhargava und Mitarbeiter [7] publiziert.

### 3.11. Herstellungsmethoden einer Solubilisatlösung

Die Solubilisation ist ein Vorgang, der spontan abläuft und die entstandene Lösung ist thermodynamisch stabil. Für industrielle Zwecke ist es wichtig, den Gleichgewichtszustand schnell zu erreichen. Als Beispiel sei hier die Solubilisation von Vitamin A als einem wasserunlöslichen Stoff angeführt [118]. Zwei verschiedene Herstellungsarten kommen in Frage: Zugabe von Vitamin A in eine wässrige Lösung eines nichtionischen Tensids mit anschliessendem Rühren, und die Verdünnung eines konzentrierten Gemisches aus dem Vitamin A mit dem nicht-ionischen Tensid mit Wasser. Beide Methoden ergeben in der Praxis nicht das-selbe Resultat [119]. Die Löslichkeit der ersten Methode ist geringer als die der zweiten Methode. In extremen Fällen kann nach der ersten Methode nicht dieselbe Menge Solubilisat gelöst werden wie nach der zweiten Methode. Solche Ungleichgewichtszustände fanden Becher und Clifton [120] sowohl in wässrigem als auch nichtwässrigem Milieu bei nichtionischen Tensiden. Diese Autoren fanden, dass die Trübung einer Solubilisatlösung abhängt von der Herstellungsart der Lösung. Die Anwesenheit von Solubilisat oder Verunreinigungen beeinflusst offenbar die zum Erreichen des Gleichgewichtes erforderliche Zeit [121].

Müller-Goymann [77] stellte erhöhte Solubilisierkapazität fest nach Zusammenschmelzen eines Solubilisates mit dem Tensid im Vergleich zum Auflösen des Solubilisates in der Tensidlösung.

### 3.12. Tenside zur Bioverfügbarkeitsbeeinflussung

Beim Einsatz von Solubilisatoren ist zu beachten, dass bei der Einlagerung des lipophilen Wirkstoffes in die Mizelle eine mehr oder weniger starke Bindung zwischen dem Solubilisator und dem Wirkstoff und damit oft eine Resorptionsverzögerung eintritt. Diese kann mit einer Wirkungsverminderung einhergehen [122]. Soll eine Depotwirkung erzielt werden, so kann die Resorptionsverzöge-

rung allerdings von Vorteil sein. Der biologischen Prüfung von Solubilisat-systemen kommt hervorragende Bedeutung zu, da ft auch eine Bioverfügbarkeits-verbesserung von in Tensidlösungen applizierten Wirkstoffen festgestellt werden kann [24]. Folgende zwei Effekte sind möglich: eine Wirkung auf die absorbierende Membran [123] und eine Veränderung der physikalischen Eigen-schaften des Wirkstoffes in der Darreichungsform [17]. Münzel [124] nahm an, dass die Art und das Ausmass der Wirkung abhängig sind von der Konzentration und der Chemie des Tensids, dass aber einzelnen Tensiden an sich auch be-stimmte pharmakologische Wirkungen zukommen. Die allgemeine Ansicht, Tenside seien Absorptionsverbesserer, ist deshalb nur zum Teil richtig. Eine ausführliche Übersicht über die Verwendung von Tensiden zur Bioverfügbarkeitsbeeinflussung haben Attwood und Florence [22] zusammengestellt. Florence [125] untersuchte den Einfluss von Solubilisatoren auf die Absorption von parenteral applizierten Wirkstoffen. Er ging davon aus, dass der Wirkstoff nach Applika-tion nicht ausfällt, bis der Solubilisator vom Blut unter seine CMC verdünnt wurde. Für den Wirkstoff Diazepam wurde eine verbesserte Bioverfügbarkeit festgestellt, wenn Diazepam in Cremophor<sup>R</sup> EL solubilisiert appliziert wurde gegenüber einer Formulierung mit Propylenglykol. Kakemi und Mitarbeiter [126] untersuchten Saccharosemonostearat und Saccharosedistearat als Resorptionsver-besserer nach peroraler Applikation an der Ratte. Beide Tenside beeinflussten die Absorption von Tetracyclin nicht. Kim und Jarowski [127] machten Unter-suchungen mit Cholesterinestern als wirkstofffreisetzungsfördernden Sub-stanzen. Fix und Mitarbeiter [128] konnten zeigen, dass den Acylcarnitinen im Gastrointestinaltrakt eine absorptionsfördernde Eigenschaft zukommt. Nach Bhargava und Mitarbeitern [7] scheinen die Mikroemulsionen hervorragende Wirk-stofffreigesysteme zu sein. Sie schrieben den Mikroemulsionen die Fähigkeit zu, die Absorption und klinische Wirkung von Wirkstoffen zu verbessern sowie toxische Erscheinungen zu vermindern.

#### 4. HLB-System

##### 4.1. Definition

Den HLB-Begriff (vom englischen Hydrophilic Lipophilic Balance) prägte Griffin [129] 1949 für die nichtionischen Emulgatoren. Dieser ermöglichte eine rein empirische Klassifizierung. Im HLB-System erhalten die Tenside dimensionslose Zahlenwerte, die in einer willkürlichen Skala von 1 bis 20 eingeteilt werden. Einem lipophilen amphiphilen Stoff wird ein niedriger, einem hydrophilen ein hoher HLB-Wert zugeordnet, wobei der Grenzwert 10 beträgt [21]. Der HLB-Wert gibt den Prozentgehalt des hydrophilen Anteils des nichtionischen Emulgator-moleküls an. Ein fiktiver nichtionischer Emulgator mit 100 % hydrophilem An-teil würde demzufolge einen HLB-Wert von 100 haben. Aus Zweckmässigkeitsgrün-

den legte Griffin [129] eine Zahlenskala von 1-20 fest. In dieser Skala würde solch ein Emulgator den HLB-Wert 20 erhalten. Demzufolge besitzt z.B. das Tween<sup>R</sup> 20 mit dem HLB-Wert 16,7 einen hydrophilen Anteil von 84 %, bezogen auf das Gesamt molekül. Diese Definition des HLB-Wertes nach Griffin galt vorerst nur für nichti nische Tenside und wurde später auf alle amphiphilen Stoffe ausgedehnt. Beispielsweise beträgt der HLB-Wert für reines Natriumlaurylsulfat 40. Das besagt verständlicherweise nicht, dass der hydrophile Teil des Moleküls 200 % beträgt, sondern lediglich, dass dieses Tensid im Vergleich zu anderen Emulgatoren einen scheinbaren HLB-Wert von 40 hat [2]. Es versteht sich, dass der HLB-Wert eines Tensids in Beziehung steht zu seiner Löslichkeit. Obwohl das Löslichkeitsverhalten von Tensiden gleichen HLB-Wertes verschieden sein kann, gilt generell, dass sich die Tenside mit niedrigem HLB < 10 in Öl lösen, die mit hohem > 10 in Wasser [130] [131]. Der HLB-Wert eines Tensidgemisches lässt sich aus den Werten seiner Bestandteile additiv berechnen. So würde z.B. ein Gemisch aus 60 % eines Tensides mit HLB 20 und 40 % eines Tensides mit HLB 8 einen Wert von  $0,6 \cdot 20 + 0,4 \cdot 8 = 15,2$  haben.

Neben dem HLB-System von Griffin wurden verschiedene andere Einordnungen nach Hydrophilie und Lipophilie geschaffen, ohne jedoch dessen Bedeutung zu erlangen.

Der R-Faktor eines Tensids ist nach Heusch [47] ein anderer Ausdruck für den HLB-Wert und stellt ein Mass dar zur Charakterisierung der Hydrophilie resp. Lipophilie eines amphiphilen Stoffes. Der R-Faktor beruht auf der Bestimmung der Krümmung einer Grenzfläche. R = 1 entspricht einem HLB-Wert von 10. Ist die Krümmung zum Wasser klein, dann ist sie zu Öl entsprechend grösser. Der R-Faktor wird kleiner als 1. Es entstehen O/W-Strukturen. Ist der R-Faktor grösser als 1, entstehen W/O-Strukturen. Der R-Faktor konnte sich in der Praxis nicht durchsetzen.

Greenwald und Mitarbeiter [132] schlugen die Wasserzahl als Einteilung für den Hydrophilen-Lipophilen-Charakter von amphiphilen Stoffen vor. Diese Zahl wird erhalten durch Titration eines in mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmitteln gelösten Tensids mit Wasser, bis eine Trübung eintritt [9]. Die ml Wasserverbrauch sind dem HLB-Wert des Tensids proportional [112].

Für die Polyoxiethylenderivate entwickelten Moore und Bell [133] ein System, bei dem sogenannte H/L-Zahlen (Hydrophil-Lipophil) verwendet werden. Die H/L-Zahl lässt sich nach folgender Beziehung ermitteln:

$$\text{H/L-Zahl} = \frac{\text{Zahl der Ethylenoxideinheiten} \cdot 100}{\text{Zahl der C-Atome im lipophilen Rest}} \quad (\text{Gleichung 3})$$

Bei ausgeglichenen Molekülen beträgt die H/L-Zahl 65. Chun und Martin [134] stellten eine lineare Beziehung zwischen den H/L-Zahlen und den HLB-Werten nichtionischer Tenside fest (Abschn. D. 4.2.1.).

Wenn auch das HLB-System unter den aufgeführten Methoden die grösste Bedeutung hat, so darf es dennoch nicht kritiklos zur Lösung pharmazeutischer Probleme herangezogen werden [131].

#### **4.2. Bestimmungsmethoden**

##### **4.2.1. Rechnerische Methoden**

Nach Griffin

Für einige Stoffklassen aus der Gruppe der nichtionischen Tenside gab Griffin [135] Formeln an, die den HLB-Wert aufgrund analytischer oder struktureller Daten zu berechnen gestatten. Für Fettsäureester gilt:

$$\text{HLB} = 20 \left(1 - \frac{\text{VZ}}{\text{SZ}}\right) \quad (\text{Gleichung } 4)$$

VZ = Verseifungszahl

SZ = Säurezahl

Für schwer verseifbare Polyglykolether und Ester gilt:

$$\text{HLB} = \frac{\text{E} + \text{P}}{5} \quad (\text{Gleichung } 5)$$

E = Gewichtsprozent an Ethylenoxidgruppen

P = Gewichtsprozent an mehrwertigen Alkoholen

Enthält die Substanz keinen mehrwertigen Alkohol, wie bei polyoxiethylierten Fettsäuren (Ester) oder Fettalkoholen (Ether), so lautet die Formel

$$\text{HLB} = \frac{\text{E}}{5} \quad (\text{Gleichung } 6)$$

Nach Davies

Davies [136] erarbeitete mit Hilfe der Koaleszenz-Kinetik Beziehungen zwischen HLB-Werten und physikalisch-chemischen Größen. Hieraus resultierte die Gleichung

$$\text{HLB} = \sum (\text{Gruppenzahlen der hydrophilen Gruppen}) - n (\text{Gruppenzahl pro CH}_2) + 7 \quad (\text{Gleichung } 7)$$

$n = \text{Zahl der } \text{CH}_2\text{-Gruppen in der Kohlenstoffkette.}$

Die Gruppenzahlen werden einer Tabelle entnommen, die Davies publizierte [136].

#### Nach Chun und Martin

Für Ethylen xidaddukte mit höchstens 20 EO-Einheiten haben Chun und Martin [134] eine lineare Beziehung aufgestellt zwischen dem HLB-Wert und der H/L-Zahl nach Moore und Bell [133] (Abschn. D. 4.1.).

$$\log (\text{H/L}) = 0,0971 (\text{HLB}) + 0,544 \quad (\text{Gleichung 8})$$

Die H/L-Zahl wird nach Gleichung 3 berechnet.

Marszall [137] hat die Nachteile dieser Berechnungsmethoden aufgezeigt und darauf hingewiesen, dass die klassischen Gleichungen für die HLB-Berechnung von nichtionischen Tensiden nicht geeignet sind für Tenside, deren Molekülstrukturen substituiert sind.

#### 4.2.2. Experimentelle Methoden

##### Aufgrund des Löslichkeitsverhaltens

###### Wasserlöslichkeit

Eine schnelle, aber grobe Schätzung des HLB-Wertes lässt sich aus dem Verhalten eines amphiphilen Stoffes zum Wasser vornehmen, wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist. Das Verfahren ist einfach, aber auch entsprechend ungenau [130].

Tabelle 2:

Schätzung des HLB-Wertes aufgrund der Wasserlöslichkeit des Tensids; aus [130].

HLB-Wert	Verhalten bei Zugabe zu Wasser
1-4	nicht mischbar mit Wasser
3-6	schlecht dispersierbar
6-8	milchig dispersierbar
8-10	stabile Dispersion
10-13	durchscheinende Dispersion
13-20	klare kolloidale Lösung

### **Trübungspunkt**

Griffin [135] hat vorgeschlagen, bei wasserlöslichen nichtionischen Ethylenoxidaddukten den HLB-Wert mit Hilfe des Trübungspunktes zu bestimmen. Der Trübungspunkt ist praktisch eine Funktion der EO-Kettenlänge und somit auch des HLB-Wertes. Die Bestimmungsmethode findet man bei Scheller [130] beschrieben.

### **Wasserzahl**

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass auch nach der Methode der Wasserzahlbestimmung, die Greenwald und Mitarbeiter [132] für ihr eigenes hydrophil-lipophil Gleichgewichtssystem (Abschn. D. 4.1.) ausgearbeitet haben, der HLB-Wert bestimmt werden kann.

### **Aufgrund des Grenzfächenverhaltens**

#### **Grenzflächenspannung**

Chun und Martin [134] setzten die Erniedrigung der Grenzflächenspannung im System Toluol-Wasser in Bezug zum HLB-Wert von wasserlöslichen Ethylenoxidaddukten. Die mit dem DU NOUY-Tensiometer ermittelte Grenzflächenspannung  $\gamma$  steht in linearem Zusammenhang mit dem HLB entsprechend der Gleichung

$$\text{HLB} = \frac{- (\gamma - 45,7)}{2,36} \quad (\text{Gleichung 9})$$

#### **Spreitung**

Der R-Faktor [47] drückt die Krümmung einer Grenzfläche aus. Nach Heusch kann damit der HLB-Wert bestimmt werden (Abschn. D. 4.1.).

### **Emulsionsvergleichsmethode**

Griffin [129] hat den HLB-Wert bestimmt, indem er eine Reihe von Emulsionen herstellte und daraus die stabilste ermittelte. Man mischt den unbekannten Emulgator in verschiedenen Proportionen mit einem Emulgator von bekanntem HLB, emulgiert damit ein Öl von bekanntem erforderlichem HLB in Wasser und ermittelt die stabilste Emulsion.

Um einen geeigneten bekannten Emulgator als Kombinationspartner auszuwählen ist es notwendig, den HLB-Wert des unbekannten Tensids aus seiner Wasserlöslichkeit (Tabelle 2) abzuschätzen. Robbers und Bhatia [138] modifizierten die Griffin'sche Methode, indem sie die Phasentrennung durch Zentrifugieren beschleunigten. Middleton [139] versuchte ebenfalls, die Emulsionsvergleichsmethode von Griffin zu verbessern. Er titrierte eine Tensidlösung zur Emulsion und bestimmte den Punkt der stabilsten Emulsion. Marszall [140] beschrieb eine Methode der HLB-Bestimmung, in der er den Emulsionsumkehrpunkt bestimmte.

Da die Emulsionsvergleichsmethode nach Griffin viel Arbeit erfordert und auch verhältnismässig langwierig ist, haben verschiedene Autoren nach geeigneteren Verfahren, die leichter und einfacher auszuführen sind, gesucht. Es waren vor allem chromatographische Methoden, deren Anwendung hoffnungsvoll zu sein schien. Sie benutzten Nakagawa und Nakata [141] die Papierchromatographie zur Bestimmung der HLB-Werte und fanden eine recht gute Übereinstimmung der von ihnen erhaltenen Rf-Werte mit den Werten, die mittels Emulsionsvergleichsmethode erhalten wurden. Das Verfahren ist jedoch nur auf Polyoxyethylen-Derivate anwendbar. Zwischen dem HLB-Wert und dem Rf-Wert besteht die Beziehung, dass sie sich umgekehrt proportional verhalten. In ihren Untersuchungen haben Nakagawa und Nakata festgestellt, dass Tween<sup>R</sup> 61 insofern eine Ausnahme bildete, als trotz des niederen HLB-Wertes der Rf-Wert ebenfalls niedrig war. Für dieses abweichende Verhalten fanden sie keine Erklärung. Scotney und Truter [142] synthetisierten verschiedene ethoxilierte Cholesterine, die sie mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie näher untersuchten. Dabei stellten sie ein annähernd lineares Verhältnis fest zwischen den RF-Werten und der EO-Kettenlänge, die dem HLB-Wert proportional ist. Das Verfahren der Gaschromatographie schien universeller einsetzbar zu sein. Harva und Mitarbeiter [143] fanden, dass die Verteilungskoeffizienten von Diisobutylen in Emulgatoren unabhängig von deren molekularem Aufbau in linearer Beziehung zum HLB-Wert stehen. Becher und Birkmeier [144] beschrieben eine Gaschromatographiemethode, bei der das Tensid als Substrat auf der Säule liegt. Sie bestimmten die relativen Retentionszeiten eines Flüssigkeitspaars aus einem polaren und einem apolaren Anteil. Sie zeigten, dass so die Polarität des Flüssigkeitsgemisches bestimmt werden kann, und dass diese ein Mass für den HLB-Wert des Tensids darstellt. Diese Methode fand mit gutem Erfolg Verwendung für einige nichtionische Tenside. Petrowski und Vanatta [145] versuchten mit der GC-Methode die Bestimmung des erforderlichen HLB von Fetten und Ölen. Sie fanden nach dieser Methode keine gute Übereinstimmung der Retentionszeiten mit den für die untersuchten Fette und Öle in der Literatur publizierten erforderlichen HLB-Werten. Olano und Martinez [146] konnten nur für eine homologe Reihe eine gute Übereinstimmung von Retentionszeiten und den für die Tenside nach den Berechnungsmethoden von Griffin und Davies bestimmten HLB-Werten feststellen. Sie verwendeten die Methode der Gas-Flüssig-Chromatographie. Eine Literaturrecherche hat ergeben, dass die Methode der Hochdruckflüssigkeitschromatographie nur für die qualitativen und quantitativen Analysen von Tensiden Anwendung fand. Bisher wurde nach der HPLC-Methode noch nie ein HLB-Wert bestimmt.

### Andere HLB-Bestimmungsmethoden

Eine Reihe von anderen HLB-Bestimmungsmethoden hat Rahm [131] zusammengestellt und beurteilt. Erwähnt sein soll hier noch der Versuch von Zakrzewski und Mitarbeitern [147], die den HLB-Wert mit Hilfe der Kernresonanzspektroskopie (NMR) für eine Reihe von Tensiden bestimmen konnten.

### 5. Planung und Entwurf eines Solubilisators

Zur Planung eines wasserlöslichen untoxischen amphiphilen Moleküls, das solubilisierende Eigenschaften zeigt und intravenös appliziert werden kann, soll hier gezeigt werden, welche Faktoren zu berücksichtigen sind.

#### 5.1. Lipophile Molekülteil

Der lipophile Anteil im Tensidmolekül muss eine minimale Grösse aufweisen, bis kolloidale Eigenschaften feststellbar sind. Münzl [38] stellte fest, dass sie bei den Seifen erst bei einer Kette von 8 C (Caprylsäure) eintreten. Übersteigt die Grösse des lipophilen Molekülteiles die Hydrophilie des hydrophilen Tensidteiles, so löst sich der amphiphile Stoff im Wasser nicht mehr oder nur noch teilweise. Mima [148] untersuchte die Solubilisierfähigkeit von Saccharoseestern unterschiedlicher Kettenlänge und stellte erst ab einer Länge von 8 C eine Solubilisierkapazität fest. Saccharose, verestert mit Linolensäure (18 C und 3 Doppelbindungen) zeigte nur noch geringe Solubilisierkapazität: Das Tensid war kaum mehr wasserlöslich. Shinoda [149] stellte fest, dass die Kettenlänge des lipophilen Tensidmolekülteiles bei nichtionischen Tensiden einen nicht so grossen Einfluss auf die Solubilisierkapazität wie bei den ionischen Tensiden ausübt. Lambert [150] und Klevens [102] konnten bei Seifen mit Kettenlängen 8 C bis 16 C zeigen, dass die Solubilisierkapazität mit wachsender Grösse des lipophilen Molekülteiles zunimmt, allerdings nicht linear. Nach Seib [8] hat eine Kettenverzweigung einen negativen Einfluss auf die Solubilisierkapazität. Einen guten Überblick über die Einflussfaktoren des Tensidmoleküles auf die Solubilisation vermittelte Seiller [86]. Eine Zusammenstellung der Beziehung der Fettsäurekettenlänge zur Toxizität von verschiedenen Tensiden findet man bei Attwood und Florence [22].

## 5.2. Hydrophile Molekülteil

Es liegen einige Arbeiten über den Vergleich der Solubilisierkapazität von ionischen und nichtionischen Tensiden für Solubilisate, die im Innern von Mizellen solubilisiert werden, vor [93] [102] [108]. Allgemein gilt, dass die Solubilisierkapazität von Tensiden mit derselben Kohlenstoffkettenlänge in der Reihenfolge anionische < kationische < nichtionische Tenside zunimmt. Dieser Effekt wurde der entsprechenden Zunahme des Volumens der hydrophilen Kopfgruppe zugeschrieben, was zu Mizellen mit weniger dichtem lipophilem Zentrum führt und so mehr Solubilisat aufgenommen werden kann [93]. Nichtionische Tenside haben also den Vorteil, dass sie in niedrigeren Konzentrationen solubilisieren als ionische Tenside [22].

Will man einen guten Solubilisator entwerfen, so stellt sich das Problem, für einen möglichst grossen lipophilen Tensidrest einen passenden hydrophilen Rest zu finden, dessen Hydrophilie so stark ist, dass das Tensid in Wasser klar in Lösung geht. Um dem grossen Anforderungskatalog an den zu entwerfenden Solubilisator gerecht zu werden (Abschn. C. 3.), verbleibt die Auswahl innerhalb der Gruppe jener Moleküle, die als Prodrug-Gruppen in der Pharmazie bereits Verwendung finden [1] [151]. Weiter bieten sich hydrophile Gruppen an, die auch in der Natur zu finden sind und gegenüber einer Prodrug-Gruppe den Vorteil der geringeren Toxizität haben. Es seien hier die Aminosäuren erwähnt (als Kondensationsprodukte mit Fettsäuren unter der Tensidklassenbezeichnung Lamepone<sup>R</sup> bekannt [5] [38]), die Polyhydroxiverbindungen wie Zucker [152] und Glycerin sowie die phosphororganischen Verbindungen [39]. Als Gemisch von Phosphatiden ist das Lecithin bekannt. Erwähnt sei hier auch die Möglichkeit, die Löslichkeit eines Tensids zu verbessern, indem in der lipophilen Kette hydrophile Reste eingebaut werden [61] [153].

Da keine geeignete Modelle zur Berechnung der Löslichkeit eines Tensids aufgrund seiner Molekülstruktur bestehen, wurden verschiedene Substanzen synthetisiert. Die Wasserlöslichkeit, die Solubilisiereigenschaft und die Hämolyseaktivität verschiedener Derivate aus den Tensidklassen der Zuckerester, Polyglycerinester, Seifen, Acylcarnitine und Cholesterinhalbester wurden untersucht. Mit Hilfe des Molecular Modelling liesse sich computerunterstützt die Hydrophilie eines Moleküls vorausberechnen [154]. Dieses Modell basiert allerdings auf bereits bekannten Löslichkeitsdaten von Substanzen, die eine ähnliche Molekülstruktur aufweisen. Diese Daten müssten der Literatur entnommen oder selber bestimmt werden.

## B. Experimenteller Teil

### 1. Synthese von Zuckерestern

Um verschiedene Zuckermanonfettsäureester auf ihre Wasserlöslichkeit und ihre Eignung als Solubilisatoren für Ciclosporin als Solubilisatmodellsubstanz prüfen zu können, musste eine Reihe von Substanzen dieser Tensidklasse beschafft werden. Auf dem Weltmarkt waren nur solche Saccharoseester erhältlich, die in der Lebensmittelindustrie weit verbreitet Anwendung finden. Die nicht käuflichen Raffinoseester sowie Saccharoseester mit hohem Monoesteranteil wurden in verdankensverter Weise in der Abteilung Chemische Entwicklung Pharma (CEP) der SANDOZ synthetisiert. Ziel war es, möglichst reine Monoester von Saccharose und Raffinose mit Fettsäuren zu erhalten.

#### 1.1. Synthesemöglichkeiten für Saccharosefettsäureester

Bei der Veresterung von Saccharose sind einige Besonderheiten zu beachten [155]. Die Saccharose ist ein relativ grosses und aufgrund der Konstitution empfindliches Moleköl. Selbst kleine Mengen Säure invertieren sie. In Gegenwart konzentrierten Alkalis tritt oxidative Zerstörung ein. Zudem ist sie temperaturempfindlich. Die Löslichkeit der Saccharose in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln ist sehr gering. Saccharose löst sich praktisch nur in Wasser. Im Saccharosemoleköl bieten sich alle Hydroxilgruppen zur Veresterung an, allerdings mit unterschiedlicher Neigung. Zur Herstellung von Fettsäurezuckerestern wurden in der Literatur alle drei Veresterungsgrundreaktionen beschrieben [156]:

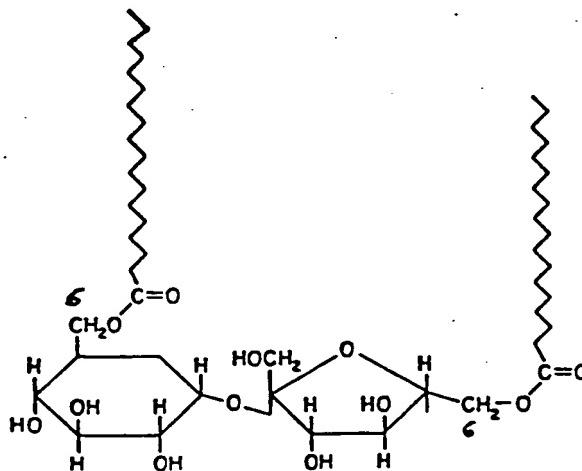
- Direkte Veresterung mit Fettsäuren
- Umsetzung mit Säurechloriden
- Umesterung der Fettsäuremethylester

Die verschiedenen Reaktionen haben Gerhardt und Liebscher [155] ausführlich diskutiert.

#### 1.2. Umesterung der Fettsäuremethylester

Als die klassische Saccharosefettsäureester-Synthese hat sich die Umesterung der Fettsäuremethylester durchgesetzt. Die Ausarbeitung der Methode durch Osipow und Mitarbeiter [157] ist eine der wichtigsten Etappen in der Entwicklung der Zuckertenside. Nach Osipow löst man beide Reaktionspartner – Saccharose und Fettsäuremethylester – in Dimethylformamid und erwärmt nach Zusatz von Kaliumcarbonat als Katalysator im Vakuum auf 90°C. Dabei tritt Umesterung ein und das während der Reaktion entstehende Methanol wird laufend aus dem Gleichgewicht entfernt. An das zur Anwendung kommende Lösungsmittel werden bestimmte Anforderungen gestellt. So muss es die hydrophile Saccharose sowie die hydrophoben Fettsäuremethylester lösen und stabil gegenüber Alkali sein.

Nebst Dimethylformamid sind andere Lösungsmittel untersucht worden [155] [158]. Desai und Lowicki [54] berichteten über ein Verfahren, das die Herstellung der Zuckertenside ohne Lösungsmittel ermöglicht. Hopkins und Small [159] beschrieben eine Methode, mit der die bitter schmeckenden anfallenden Syntheseprodukte geschmacklos gemacht werden können. Osipow [157] konnte zeigen, dass mit seiner Umesterungsmethode die Saccharose bevorzugt an der Position 6 der Glucose verestert wird. Entsteht ein Diester, so wird die Position 6 der Fructose als nächste verestert.



**Abbildung 8:**  
Strukturformel von Saccharoseditearat.

### 1.3. Synthese der Zuckerester bei CEP

Sowohl die Saccharose- als auch die Raffinoseester wurden nach der Umesterungsmethode nach Osipow hergestellt. Die Reaktionsprodukte wurden mit Aceton gefällt und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Es wurden nur die Fraktionen eingedampft, in denen mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie (Abschn. E. 5.2.2.) nur Monoester nachgewiesen werden konnten. Die Zuckerester fielen so in einer Reinheit von > 95 % Monoesteranteil an.

Bei der CEP wurden folgende Zuckerester synthetisiert und mir zur galenischen Prüfung überlassen:

Saccharosemonocaprat

Saccharosemonolaurat

Saccharosemonooleat

Saccharosemonostearat

Raffinosemonocaprat

Raffinosemono-12-hydroxystearat

Raffinosemonolaurat

Raffinosemonooleat

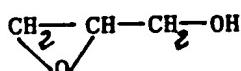
Raffinosemonoricinoleat

Raffinosemonostearat

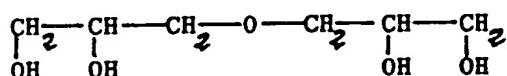
## 2. Synthese von Polyglycerinestern

### 2.1. Methode

Die Ausgangssubstanz für die Herstellung der Polyglycerinester ist Polyglycerin, eine Kette aus etherverknüpften Glycerinmolekülen. Polyglycerin wird normalerweise durch thermische Dehydratation von Glycerin mittels saurer oder alkalischer Katalyse hergestellt [160]. Bei dieser Polykondensation werden die Polyglycerine unter Freisetzung von einem Molekül Wasser gebildet. Die Dehydratation kann entweder intramolekular oder intermolekular ablaufen, wobei zwei Typen von Substanzen entstehen. Wenn die intramolekulare Dehydratation stattfindet, wird ein Glycid gebildet:



Im Fall einer intermolekularen Dehydratation entstehen Di- oder Polykondensationsprodukte der folgenden Struktur:



Da die primären Hydroxilgruppen reaktiver sind als die sekundären, bilden sich bevorzugt lineare Polyglycerine [161]. Neben den linearen Polyglycerinen können aber auch cyclische auftreten [160] [162] [163]. Die durchschnittliche Kettenlänge, die entsteht, ist abhängig von der Temperatur und der Reaktionsdauer. Es wurden Ketten mit zwei bis 30 Mol Glycerin synthetisiert [161]. Die Polyglycerine bilden leicht Ester mit Fettsäuren unter ähnlichen Bedingungen wie die Glycerinpolykondensation, wobei die Veresterung an jeder freien Hydroxilgruppe möglich ist [164]. So entstehen immer undefinierte Subzangemische. Garti und Mitarbeiter [165] entwickelten eine Optimierung der Zweischritteaktion für die industrielle Herstellung von Fettsäurepolyglycerinestern. Neissner [162] synthetisierte durch Kondensation von 99 %igem Glycerin Polyglycerine, die durch direkte Veresterung mit 99 %iger Caprin-, Laurin-, Myristin-, Palmitin- und Stearinsäure zu den entsprechenden Fettsäurepolyglycerinestern umgesetzt und durch Kennzahlen und DC-Trennung analysiert wurden.

### 2.2. Synthese von Polyglycerinestern durch die Firma Gattefossé

Die Firma Gattefossé, F-Saint-Priest, hat freundlicherweise folgende Polyglycerinester synthetisiert und zur galenischen Prüfung überlassen:

Mono-Di-Polyglycerinester der Myristinsäure

Mono-Polyglycerinester der Laurinsäure

Mono-Polyglycerinester der Caprylsäure

Die Firma Gattefossé synthetisierte diese Polyglycerinester in zwei Stufen.

Das Polyglycerin wurde bei hoher Wärme mit Natriumhydrogencarbonat als Katalysator synthetisiert. Das Polyglycerin wurde dann in einem zweiten Schritt ohne Katalysator bei hohen Temperaturen mit der Fettsäure verestert.

### 3. Herstellung von Seifen

#### 3.1. Herstellung von Natrium- und Kaliumricinoleat

Ricinolsäure (Fluka, CH-Buchs) wurde mit Natriumhydrogencarbonat resp. Kaliumhydrogencarbonat in einer Ethanol/Wasser-Mischung in Reaktion gebracht. Die klare wässrige Lösung wurde mit Ether ausgeschüttelt und im Trockenschrank eingeengt. Die erhaltenen Seifen wurden mittels IR und DC auf ihre Identität und Reinheit geprüft.

#### 3.2. Herstellung von 12-Hydroxistearinsäure-Natriumsalz

12-Hydroxistearinsäure (Fluka, CH-Buchs) wurde in einer Ethanol/Wasser-Mischung mit Natriumhydroxid versetzt und das ausgefallene Reaktionsprodukt abgenutscht, getrocknet und in absolutem Ethanol umkristallisiert. Die Seife wurde mit DC auf Reinheit geprüft.

#### 3.3. Herstellung von Threo-9,10-Dihydroxistearinsäure-Natriumsalz

In einem ersten Schritt wurde Ölsäure (Fluka, CH-Buchs) nach einer Methode von Käbisch und Mitarbeitern [166] mit Ameisensäure 98 % und  $H_2O_2$  35 % hydroxyliert, wobei in situ Perameisensäure entstand, die mit der Ölsäure in Reaktion trat. Das Reaktionsprodukt wurde mittels Destillation von Ameisensäure und Wasser befreit und der Rückstand durch Versetzen mit Natriumhydroxid bei 70°C in Lösung gebracht. Aus dem dabei entstandenen Natriumsalz der Dihydroxistearinsäure wurde die Säure durch Versetzen mit Salzsäure in Freiheit gesetzt und aus Ethylacetat umkristallisiert. In einem zweiten Schritt wurde die Dihydroxistearinsäure mit Natriumhydroxid in Wasser versetzt und das Lösungsmittel abgedampft.

### 4. Synthese von Cholesterinhalbestern

#### 4.1. Cholesterinhemioxalat

Es wurde versucht, Cholesterin durch Veresterung mit einem hydrophilen Molekül zu verknüpfen, um ein wasserlösliches Tensid zu erhalten. Dazu synthetisierte die CEP das Cholesterinhemioxalat. Cholesterin wurde in Anwesenheit von Pyridin mit Oxalylchlorid in Reaktion gebracht, mit Wasser versetzt und extrahiert. Das Cholesterinhemioxalat war weder bei Raumtemperatur noch bei Erwärmen in Wasser löslich.

#### 4.2. Cholesterinhemisuccinat-Natriumsalz

Um das schlecht wasserlösliche Cholesterinhemisuccinat hydrophiler zu machen, wurde davon das Natriumsalz gebildet. Eine ethanolische Lösung von Cholesterinhemisuccinat (SIGMA Chemical Comp., St. Louis, USA) wurde mit einer wässrigen Lösung von Natriumhydrogencarbonat versetzt und die Reaktionsmischung eingeengt. Die Identität des Produktes wurde mit IR belegt.

#### 5. Analytik der Zuckerester

##### 5.1. Haupt- und Nebenprodukte

Die durch Umesterung der Fettsäuremethylester synthetisierten Zuckertenside (Abschn. E. 1.2.) enthalten nebst einer komplizierten Mischung von Hauptprodukten auch eine Reihe von Nebenprodukten, die bei der Aufarbeitung abgetrennt werden müssen. Die analytische Kontrolle der Zuckertenside soll die Haupt- und Nebenprodukte qualitativ erfassen sowie den Anteil an Hauptprodukten, den Monoestern, quantitativ bestimmen können. Bei der Synthese von Saccharosemonoestern fallen in der Regel etwa 70 bis 80 % Monoester, annähernd 10 - 20 % Di- und Triester sowie höhere Ester der Saccharose an [167].

###### 5.1.1. Hauptprodukte

Saccharose enthält 8 zur Umsetzung befähigte Hydroxilgruppen. Dies ermöglicht das Entstehen einer grossen Anzahl von Strukturisomeren. Im Falle der Monosubstitution sind 8 Isomere zu erwarten. Berücksichtigt man dabei, dass von den 8 Hydroxilgruppen nur 3 primär und damit bevorzugt reaktionsfähig sind, so wird diese Zahl eingeschränkt. Sowohl bei der Monoveresterung von Saccharose als auch von Raffinose ist damit zu rechnen, dass als Hauptprodukte mehrere Isomere des monosubstituierten Zuckers entstehen [168]. Die Bestimmung der einzelnen Typen von Strukturisomeren ist sehr schwierig und weil für die Praxis von untergeordneter Bedeutung, wurde sie nicht durchgeführt.

###### 5.1.2. Nebenprodukte

Bei der Synthese von Fettsäuremonoestern der Saccharose und Raffinose entstehen die folgenden Nebenprodukte und Verunreinigungen, die es im Aufarbeitungsgang vom Hauptproduktgemisch abzutrennen gilt [167]:

- Di-, Tri- und Polyester
- Seife. Sie entsteht bereits im Verlauf des Reaktionsprozesses aus den Methylestern und dem alkalischen Katalysator.
- Freie Fettsäuren. Sie werden durch Hydrolyse der Zuckerester in den Endphasen der Synthese frei.
- Methylester der Fettsäuren
- Freie Saccharose

- Anorganische Salze aus den Katalysatoren
- Lösungsmittel, vorwiegend Dimethylformamid
- Wasser. Infuge der Hygroskopizität der Zuckerester, besonders jener von niederen Fettsäuren C 10 - C 14, lässt sich in der Regel Wasser nachweisen.

## 5.2. Analytische Methoden für die Hauptproduktbestimmung

### 5.2.1. Reinheit der Fettsäuren

Die Analytik der Hauptprodukte wird dadurch erschwert, dass der lipophile Teil der Moleküle nicht aus einer, sondern mehreren Fettsäuren besteht. Eine Analyse der Fettsäurenzusammensetzung in den verwendeten Ryoto<sup>R</sup>-Saccharoseestern (Tabelle 3, Abschn. E. 6.2.1.) und in den von der CEP synthetisierten Saccharose- und Raffinoseestern mittels Gaschromatographie ergab, dass alle Fettsäuren Gemische waren aus vorwiegend Laurin-, Myristin-, Palmitin-, Stearin- und Ölsäure in unterschiedlichen Anteilen. Die Reinheit der Fettsäure ist für die Wasserlöslichkeit eines Zuckermanofettsäureesters von Bedeutung (Abschn. E. 6.2.).

### 5.2.2. Monoesteranteil

Für die Verwendung der Zuckermanoester als Solubilisatoren ist die Kenntnis des Monoesteranteiles von Bedeutung. In der CEP wurde der Monoesteranteil der dort synthetisierten Zuckerester nach der Aufarbeitung mittels Dünnschichtchromatographie überprüft (Abschn. E. 1.3.). Diese Methode ist semiquantitativ und erlaubt nur ungefähre Angaben über den Monoesteranteil [169]. Nach der dünnschichtchromatographischen Auftrennung der säulenchromatographisch gereinigten Zuckerester konnte der Monoesteranteil der Produkte der CEP als über 95 % angegeben werden.

Kaufman und Garti [170] entwickelten eine Methode zur Analyse von Zuckerestern mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) unter Verwendung einer RP-18-Säule sowie Methanol, Isopropanol und Wasser als Laufmittel. Diese Methode erlaubt nur eine qualitative Analyse. Eine quantitative Bestimmung der Mono-, Di- und Polyesteranteile in einem Zuckerester ist möglich mittels Gelpermeationschromatographie (GPC). Mit dieser Methode bestimmt die Firma Mitsubishi-Kasei Food Corporation die Monoesteranteile in ihren Zuckerestern [171]. Die von dieser Firma deklarierten Monoesteranteile finden sich in Tabelle 3.

### 5.3. Diskussion

Die Zuckerester können nie als definierte Reinsubstanzen erhalten werden. Diese Tatsache trifft nicht nur auf die Tensidklasse der Zuckerester alleine zu. Auch die Ethylenoxidaddukte, Seifen, Polyglycerinester und viele andere Fettsäuretenside sind undefinierte Gemische aus mehreren amphiphilen Stoffen.

Das Molekulargewicht einer Tensidsubstanz kann nur als Durchschnitt angegeben werden. Die Konzentrationsangabe eines Tensids in Wasser in [M 1/Liter] ist daher problematisch. Von Sonderfällen abgesehen wurden in dieser Arbeit die Prozente [%] (G/G) zur Angabe der Konzentration eines Tensids verwendet.

## 6. Löslichkeit von Tensiden

### 6.1. Hydratbildung und Löslichkeit

Die Wasserlöslichkeit einer Substanz wird im allgemeinen durch eine Hydratbildung verursacht. Bei den Tensiden werden Wassermoleküle durch zwischenmolekulare Kräfte an die hydrophilen Gruppen der oberflächenaktiven Moleküle angelagert. Es bilden sich zwischen Tensid- und Wassermolekülen - meist durch Wasserstoffbrückenbildung - Komplexe mit ganz charakteristischen Eigenschaften. Diese Tensidhydrate treten in Konzentrationen weit über der CMC oft als feste, durchsichtige Gele auf, die optisch anisotrop sind und deshalb als "flüssige Kristalle" bezeichnet werden (Abschn. D. 3.4.).

Die Löslichkeitsanomalie nichtionischer Tenside hängt ebenfalls mit der Hydratbildung zusammen. Nichtionische Tenside, die in Wasser eine klare Lösung bilden, zeigen im Gegensatz zu anderen Tensiden ein besonderes Verhalten. Bei Temperaturerhöhung wird die Lösung beim Überschreiten einer bestimmten, relativ scharf definierten Temperatur, die für das jeweilige Tensid charakteristisch ist, trüb und es erfolgt Auftrennung der Lösung in zwei flüssige Phasen [9] [46] [116] [130]. Diese Temperatur wird Trübungspunkt, englisch "cloud point", genannt [22] [28]. Bei steigender Temperatur erfolgt eine teilweise Dehydratisierung und dadurch die Bildung einer neuen Phase.

### 6.2. Lipphiler Molekülteil

Alkyltenside haben nur selten mehr als 22 C-Atome im lipophilen Rest, da sie bei längerketigen Kohlenwasserstoffresten nicht mehr wasserlöslich sind [9]. Für die Zuckester, Seifen und Ethylenoxid-Tenside (= EO-Tenside) wurde der Einfluss der Kettenlänge und -konstitution des lipophilen Molekülteiles auf die Wasserlöslichkeit der Tenside untersucht.

#### 6.2.1. Zuckerester

Von den Mono-, Di- und Trisacchariden sind alle Di-, Tri- und Polyesterverbindungen mit gesättigten und ungesättigten sowie substituierten und unsubstituierten Alkylketten als lipophile Tensidmolekülteile schwerlöslich in Wasser. Sie eignen sich deshalb nicht als Solubilisatoren. Es wurden Zuckermonoesterverbindungen mit unterschiedlichen Kettenlängen auf ihre Wasserlöslichkeit bei Raumtemperatur untersucht.

## Saccharoseester

**Tabelle 3:**

Wasserlöslichkeit von Saccharosemonofettsäureestern bei Raumtemperatur.

C-Kette	Saccharosemono-	Herkunft*	Monoester-anteil	Wasserlöslichkeit**
C-10	-caprat	CEP	> 95 %	l
C-12	-laurat	Ryoto	~ 80 %	l bis 30 %
		CEP	> 95 %	l
C-14	-myristat	Ryoto	~ 80 %	l bis 15 %
C-16	-palmitat	Ryoto	~ 80 %	l bis 1 %
C-18	-stearat	Ryoto	~ 75 %	d
		CEP	> 95 %	d
C-18 II	-oleat	Ryoto	~ 70 %	d
		CEP	> 95 %	l

\* Herkunft: CEP = Chemische Entwicklung Pharma SANDOZ.

Ryoto = Ryoto<sup>R</sup> Sugar Esters der Firma Mitsubishi-Kasei Food Corporation, Japan.

\*\* Wasserlöslichkeit: l = klar löslich

d = dispergierbar

## Raffinoseester

**Tabelle 4:**

Wasserlöslichkeit von Raffinosemonofettsäureestern bei Raumtemperatur.

C-Kette	Raffinosemono-	Herkunft*	Monoester-anteil	Wasserlöslichkeit **
C-10	-caprat	CEP	> 95 %	l
C-12	-laurat	CEP	> 95 %	l
C-18	-stearat	CEP	> 95 %	d
C-18 II	-oleat	CEP	> 95 %	l
C-18-OH	-12-hydroxy-	CEP	> 95 %	d
C-18-OH II	stearat -ricinoleat	CEP	> 95 %	d

\* Herkunft: CEP = Chemische Entwicklung Pharma SANDOZ.

\*\* Wasserlöslichkeit: l = klar löslich

d = dispergierbar

### Diskussion

Bei den Saccharosemonoestern nimmt die Wasserlöslichkeit mit zunehmender Kettenlänge ab. Eine Doppelbindung in der C 18-Kette hat erst eine vollständige Wasserlöslichkeit des Saccharoseesters zur Folge, wenn der Mon esteranteil über 95 % liegt. Bei den Raffinosemonoestern nimmt die Wasserlöslichkeit ebenfalls mit zunehmender Kettenlänge ab. Raffinose, ein Trisaccharid, ist ein zu wenig hydrophiler Tensidmolekülteil, um eine Alkylkette mit 18 C in Lösung zu bringen. Selbst Alkylketten mit einer Doppelbindung und/oder einer Hydroxilgruppe können in einer Länge von 18 C in Kombination mit Raffinose bei Raumtemperatur in Wasser nicht in Lösung gebracht werden. Ein Vergleich der Wasserlöslichkeit von Raffinosemonooleat mit der von Raffinosemono-12-hydroxi-stearat deutet darauf hin, dass eine Doppelbindung in der Alkylkette eine wirkungsvollere Löslichkeitserhöhung bewirkt als eine Hydroxilgruppe. Wider Erwarten liess sich das Raffinosemonoricinoleat, in dessen Alkylkette eine Doppelbindung und eine Hydroxilgruppe vereint sind, bei Raumtemperatur nicht klar in Lösung bringen.

Ismail [153] berichtete über die Möglichkeit der Hydrophilierung von Fettsäurezuckerestern durch den Einbau von hydrophilen Gruppen in den Fettsäurerest. Die hydrophilen Gruppen wurden in die Mitte des Fettrestes eingeführt. Als besonders geeignet erwiesen sich Aminogruppen, N-substituierte Aminogruppen, ferner Hydroxil- und Ketogruppen, der Epoxiring, die Oximfiguration und niedere Alkoxireste [61] [172]. Diese Zuckerester zeichneten sich durch vollständige bakterielle Abbaubarkeit und hohe Oberflächenaktivität aus [60] [173] [174]. Die so substituierten Fettsäurezuckerester wurden in dieser Arbeit nicht untersucht, da sie nicht handelsüblich waren und den Anforderungen an einen wenig toxischen Solubilisator (Abschn. D. 1.4.) nicht entsprachen.

**Tabelle 5:**

Wasserlöslichkeit von Seifen bei Raumtemperatur.

Seife	Herkunft	Wasserlöslichkeit bei Raumtemperatur *
Natriumstearat	Siegfried, CH-Zofingen	d
12-Hydroxistearinsäure-Natriumsalz	Eigensynthese (Abschn. E. 3.2.)	d
Natriumoleat	Carl Roth, D-Karlsruhe	l
Threo-9,10-Dihydroxistearinsäure-Natriumsalz	Eigensynthese (Abschn. E. 3.3.)	l
Natriumricinoleat	Eigensynthese (Abschn. E. 3.1.)	l

\* Wasserlöslichkeit: l = klar löslich

d = dispergierbar

Bei den in der Tabelle 5 zusammengestellten Natriumsalzen von Fettsäuren mit gesättigter oder ungesättigter sowie substituierter oder unsubstituierter C 18-Alkylkette nimmt die Wasserlöslichkeit in der Reihenfolge nach unten zu. Auch bei den hier untersuchten Seifen war feststellbar, dass eine Doppelbindung in der Fettsäurekette eine bessere Hydrophilie zeigt als eine Hydroxilgruppe.

### 6.2.3 Ethylenoxid-Tenside

Mit 15 Mol Ethylenoxid veresterte Stearinsäure war bei Raumtemperatur im Wasser dispergierbar, wogegen mit einer EO-Kette derselben Länge veresterte 12-Hydroxistearinsäure (Solutol<sup>R</sup> HS 15) sehr leicht wasserlöslich war. Eine Hydroxilgruppe im Fettsäurerest vermag ein Tensid wasserlöslich zu machen, ohne dass die EO-Kette mit 15 Mol Ethylenoxid verlängert werden müsste. Selbst eine mit 20 Mol Ethylenoxid veresterte Stearinsäure (Myrij<sup>R</sup> 49) ist kaum wasserlöslich. Bereits eine Doppelbindung und/oder eine Hydroxilgruppe im lipophilen Tensidteil einer mit 20 Mol Ethylenoxid veresterten Fettsäure bewirken eine vollständige Wasserlöslichkeit: Ölsäure + 20 EO, 12-Hydroxistearinsäure + 20 EO sowie Ricinolsäure + 20 EO sind leicht löslich in Wasser.

### 6.3. Hydrophiler Molekülteil

Der Einfluss der Grösse des hydrophilen Tensideiteiles im Vergleich zum lipophilen Tensidmolekülteil wurde bei den Zuckerestern, EO-Tensiden und Polyglycerinestern untersucht.

#### 6.3.1. Zuckerester

Tabelle 6:

Wasserlöslichkeit von Laurylmaltosid und Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> bei Raumtemperatur.

Hydrophiler Teil	Zuckerester	Monoesteranteil	Wasserlöslichkeit bei Raumtemperatur **
Maltose	Laurylmaltosid*	> 95 %	d
Saccharose	Saccharose-monolaurat	~ 80 %	1 bis 30 %

\* Zur Verfügung gestellt von Prof. Dr. A. Vasella, ETH, CH-Zürich.

\*\* Wasserlöslichkeit: l = klar löslich

d = dispergierbar

Obwohl diese beiden Disaccharidester dieselbe Anzahl OH-Gruppen im hydrophilen Tensidmolekülteil aufweisen, zeigt der Saccharoseester die besseren Löslichkeitseigenschaften. Das kann auf die Anzahl der primären Alkohole zurückgeführt werden: Saccharosemonoester besitzen zwei primäre Alkohole, Maltosemonoester nur eine primäre Alkoholgruppe. Sowohl Saccharosemonoester als auch Raffinosemonoester weisen je zwei primäre Alkoholgruppen auf. Fettsäuren, die mit Saccharose verestert nicht wasserlöslich sind (Tabelle 3), konnten auch nach Veresterung mit Raffinose in ihrer Wasserlöslichkeit nicht verbessert werden. Offenbar können Zuckerester nur dann wirkungsvoll in ihrer Wasserlöslichkeitseigenschaft gesteigert werden, wenn die Anzahl der freien, unveresterten primären Alkoholgruppen erhöht wird.

Den Einfluss der Einführung weiterer hydrophiler Gruppen in das Zuckermoleköl auf die Wasserlöslichkeit untersuchte Ames [156]. Die erhaltenen Produkte waren zwar bakteriologisch abbaubar, ihre Löslichkeit konnte aber nur teilweise verbessert werden. Die von Ames verwendeten Substanzen waren nicht handelsüblich.

### 6.3.2. Ethylenoxid-Tenside

Die Wasserlöslichkeit von verschiedenen ethoxierter Stearinsäure bei Raumtemperatur wurde untersucht.

**Tabelle 7:**

Wasserlöslichkeit von n ethoxierter Stearinsäure bei Raumtemperatur.

Stearinsäure, verestert mit	Tensid	Wasserlöslichkeit bei Raumtemperatur *
9 EO	Cremophor <sup>R</sup> AP fest	d
15 EO	Stearinsäure + 15 EO	d
20 EO	Myrij <sup>R</sup> 49	1 bis 0,1 %
40 EO	Myrij <sup>R</sup> 52	1
50 EO	Myrij <sup>R</sup> 53	1

\* Wasserlöslichkeit: 1 = klar löslich

d = dispergierbar

Dabei wurde festgestellt, dass Stearinsäure mit mindestens 20 Ethylenoxid-Einheiten verestert werden muss, um das Tensid mit 18 C in der Alkylkette zu einer wenigstens 0,1 %igen klaren Lösung zu bringen.

### 6.3.3. Polyglycerinester

Babayan und Mitarbeiter [161] haben die Wasserlöslichkeit verschiedener Polyglycerinester in einer Tabelle zusammengestellt. Sie haben festgestellt, dass nur monoveresterte Polyglycerine bei Raumtemperatur wasserlöslich sind. Die Wasserlöslichkeit von zwei Mono-Polyglycerinestern der Laurinsäure unterschiedlicher Polyglycerinkettenlänge n wurde verglichen. Der Laurinsäure-Polyglycerinester mit einem mehrheitlichen Anteil von n = 2 war in Wasser dispergierbar, derselbe Ester mit n = 10 war gut löslich. Um einen lipophilen Teil von 12 C in Lösung zu bringen, braucht es offenbar einen möglichst hohen Anteil von 10 Glycerineinheiten im Polyglycerin. Der Mono-Polyglycerinester der Caprylsäure, der durch Monoveresterung von Caprylsäure mit Polyglycerin mit einem hohen Anteil an n = 2 hergestellt wurde, war leicht löslich in Wasser. Um einen lipophilen Teil von 8 C in Lösung zu bringen, braucht es nur noch 2 Glycerineinheiten im Polyglycerin.

## 7. CMC der Tensidlösungen

### 7.1. Bestimmungsmethoden

Stache [9] hat die vielen Bestimmungsmethoden der CMC aus der Literatur in zwei Gruppen eingeteilt: a) in Methoden, die die Konzentrationsänderung der Tensidmonomere mit steigender Tensidkonzentration registrieren und b) in Methoden, die in erster Linie die Konzentration der Mizellen anzeigen. Ozeki und Ikeda [175] haben gezeigt, dass je nach Bestimmungsmethode für das gleiche Tensid unterschiedliche CMC-Werte erhalten werden.

Die CMC ist ein angenähertes Mass für denjenigen Konzentrationsbereich, bei dem Mizellen nachweisbar werden. Deshalb ist der ermittelte CMC-Wert abhängig von der Empfindlichkeit der angewandten Bestimmungsmethode. Die meisten Methoden zur Bestimmung der CMC beruhen auf dem Nachweis von Mizellen. Der nachfolgende Überblick zeigt verschiedene gängige Methoden zur Bestimmung der CMC.

#### 7.1.1. Berechnung

Die CMC ist abhängig von der Konstitution des amphiphilen Stoffes (Abschn. D. 3.2.2.). In homologen Reihen nimmt die CMC in Wasser mit der Vergrößerung des hydrophoben Molekülanteils gesetzmässig ab. Mit der Traube'schen Regel (Gleichung 1) kann die CMC berechnet werden. Ein Nachteil der Berechnungsmethode ist die Notwendigkeit des Vorliegens von Daten einer homologen Tensidreihe.

#### 7.1.2. Oberflächenspannungsmessung

Ein Zusatz von amphiphiler Substanz zu Wasser hat eine Erniedrigung der Oberflächenspannung zur Folge, die ab einer bestimmten Tensidkonzentration, der CMC, nicht mehr weiter abnimmt, sondern konstant bleibt (Abbildung 1). Vielfach wird zur Messung der Oberflächenspannung das DU NOUY-Tensiometer verwendet [176]. Das Messprinzip dieses Gerätes beruht auf der Tatsache, dass die Kraft, welche nötig ist, um einen untergetauchten Platin-Iridium-Ring aus einer Ober- oder Grenzfläche herauszubewegen, proportional der Oberflächen- oder Grenzflächenspannung ist [21] [177].

#### 7.1.3. Solubilisationsmethode

Hartley [178] bestimmte die CMC von Seifenlösungen durch Solubilisation von Farbstoffen. Er stellte dabei fest, dass die CMC durch die Anwesenheit des Farbstoffes beeinflusst wird. Goodhart und Martin [179] bestimmten die CMC von Myrij<sup>R</sup> 59 mit Hilfe der Solubilisationsmethode und verglichen den Wert mit demjenigen, den sie mit Hilfe der Messung der Oberflächenspannung erhielten. Sie folgerten, dass letztere Methode die genaueren Resultate liefert. Auch

Mitchell und Wan [75] verwendeten die Tensidkonzentration, bei der Solubilisation eintrat, als CMC-Wert. Schott [93] stellte in seinen Versuchen fest, dass unterhalb der CMC nur wenig oder gar kein wasserunlöslicher Farbstoff solubilisiert wurde. Rehfeld [67] bestimmte die Solubilisation eines Stoffes in einer Tensidlösung mit Hilfe der UV-Messung und konnte so den Konzentrationsbereich der einsetzenden Solubilisation als CMC bestimmen.

#### 7.1.4. Lichtstreumessung

Mit Hilfe der Lichtstreumessung wird die Konzentration an gebildeten Mizellen festgestellt. Sie nimmt ab CMC zu. Diese CMC-Bestimmungsmethode unterscheidet sich im Bestimmungsprinzip von der CMC-Bestimmungsmethode der Oberflächenspannungsmessung, bei der ein Wechsel in der Konzentration an Monomeren festgestellt wird [22]. Ein Vergleich der CMC-Werte von L-1695<sup>R</sup>, bestimmt mit diesen beiden verschiedenen Methoden, ergab im Abschn. E. 7.2. keinen Unterschied.

#### 7.2. CMC der reinen Tensidlösung von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup>

Mit der Methode der Oberflächenspannungsmessung nach DU NOUY wurde für L-1695<sup>R</sup> in Wasser ein CMC-Wert von 0,01 % bei Raumtemperatur bestimmt. Mit der Methode der Lichtstreumessung wurde für denselben Zuckerester ein Wert im Bereich von 0,01 % (Abschn. E. 16.2.1.) erhalten. Diese Werte stimmen überein mit den Literaturwerten, die Gerhardt und Liebscher [168] für dieses Tensid zusammengestellt haben.

Dieselbe CMC resultierte für L-1695<sup>R</sup> nach Lösen dieser Substanz in 0,9 %iger NaCl-Lösung mit der Bestimmung der Oberflächenspannung. Mit dieser Bestimmungsmethode konnte kein Einfluss der Elektrolytzugabe auf die CMC festgestellt werden.

Beim Verdünnen von Lösungen von L-1695<sup>R</sup> mit Wasser oder 0,9 %iger NaCl-Lösung wurde festgestellt, dass sich im Bereich der CMC die Lösung trübte. Unterhalb und oberhalb der CMC lagen klare Lösungen vor. L-1695<sup>R</sup> enthält einen Monoesteranteil von ca. 80 %. Der verbleibende Anteil besteht aus einem Gemisch aus Di-, Tri- und Polyestern, die schwer löslich sind und im Bereich der CMC ausfielen. Unterhalb der CMC dürften diese Ester in Wasser löslich sein, oberhalb der CMC kann angenommen werden, dass sie von den gebildeten Mizellen solubilisiert werden. Ein Verdünnungsversuch mit reinem Saccharosemonolaurat mit einem Monoesteranteil von > 95 % zeigte keine Trübung im Bereich der CMC.

#### 7.3. CMC der Solubilisatlösung

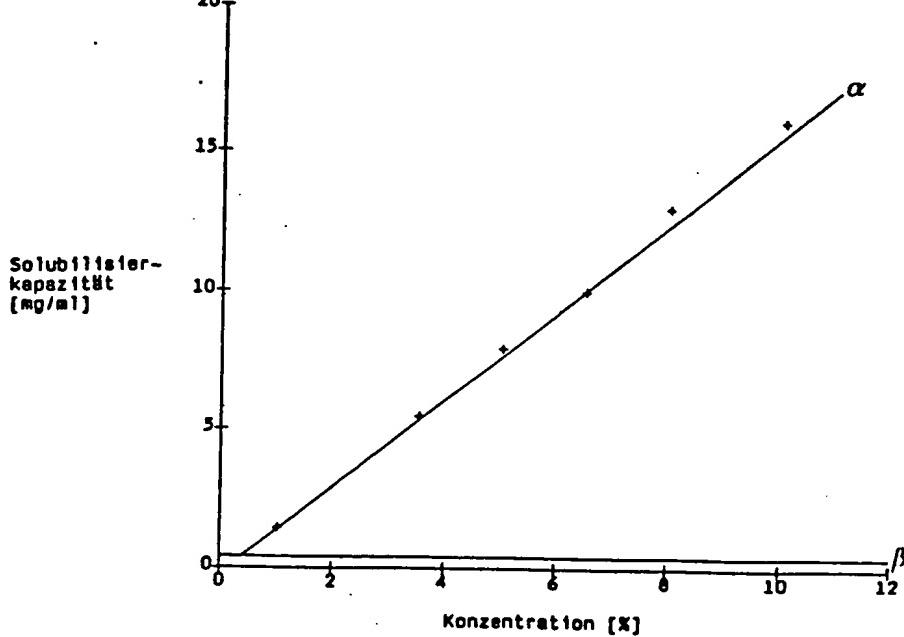
Für das System Ciclosporin solubilisiert in L-1695<sup>R</sup> wurde die CMC mittels der Konzentrationsabhängigkeit des Solubilisates bestimmt.

Im Unterschied zum in der Literatur beschriebenen Vorgehen der Bestimmung der CMC mit der S-lubilisationsmethode (Abschn. E. 7.1.3.) wurde hier nicht der Konzentrationsbereich der einsetzenden Solubilisation in Tensidlösungen ansteigender Konzentration bestimmt. Es wurde die S-lubilisierkapazität für das Solubilisat bei verschiedenen Tensidkonzentrationen > CMC bestimmt und dann interpoliert. Diese Methode bedingte, dass sich das Verhältnis der Solubilisierkapazität zur Tensidkonzentration linear verhielt in Tensidkonzentrationen bis etwa 10 % ab CMC. Das Verhältnis der Solubilisierkapazität von L-1695<sup>R</sup> für Ciclosporin verhält sich linear zur Tensidkonzentration (Abschn. E. 12.3.).

**Tabelle 8:**

Solubilisierkapazität von L-1695<sup>R</sup> verschiedener Konzentrationen für Ciclosporin bei Raumtemperatur.

Konzentration an L-1695 <sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung	Solubilisierkapazität für Ciclosporin bei Raumtemperatur
1 %	1,5 mg/ml
3,5 %	5,5 mg/ml
5 %	8 mg/ml
6,5 %	10 mg/ml
8 %	13 mg/ml
10 %	16 mg/ml



**Abbildung 9:**

Solubilisierkapazität von L-1695<sup>R</sup> verschiedener Konzentrationen für Ciclosporin bei Raumtemperatur. Darstellung der Werte der Tabelle 8. Lineares Verhältnis der Solubilisierkapazität von L-1695<sup>R</sup> für Ciclosporin (Gerade  $\alpha$ ). Gerade  $\beta$  bedeutet die Löslichkeit von Ciclosporin in Wasser. Interpolation zum Bereich der CMC der Solubilisatlösung im Schnittpunkt der Geraden  $\alpha$  und  $\beta$ .

Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,999. Die Löslichkeit von Ciclosporin in Wasser bei Raumtemperatur beträgt 0,04 mg/ml [180]. Mit Hilfe der Geradengleichung wurde der Schnittpunkt der Verbindungsgeraden der Solubilisierkapazitäten ( $\alpha$ ) mit der Geraden der Löslichkeit von Ciclosporin ( $\beta$ ) zu 0,12 % als CMC-Wert der Solubilisatlösung berechnet.

Mit Hilfe der Lichtstreumessung konnte der mittels Konzentrationsabhängigkeit des Solubilisates und Interpolation ermittelte CMC-Wert nicht bestätigt werden. Der mit Lichtstreumessung (Abschn. E. 16.2.2.) bestimmte CMC-Wert betrug etwa 0,005 %, lag also deutlich unter dem nach der Solubilisationsmethode bestimmten Wert.

#### 7.4. Diskussion

Es wurde festgestellt, dass der CMC-Wert der Tensidlösung unterschiedlich ausfiel, je nach Bestimmungsmethode. Der Unterschied der CMC-Werte, bestimmt nach der Methode der Oberflächenspannungsmessung (Abschn. E. 7.2.) und der Solubilisationsmethode (Abschn. E. 7.3.), konnte mit dem Einfluss des Solubilisates auf die Mizellbildung erklärt werden (Abschn. D. 3.2.2.). Swarbrick [24] hat

darauf hingewiesen, dass eine klare Unterscheidung gemacht werden muss zwischen der CMC in einem binären Tensid-Wasser-System und derjenigen in einem ternären System Tensid-Wasser-Solubilisat, selbst wenn der Unterschied zwischen den Werten in einzelnen Fällen nur gering ist. Mit der in Abschn. E. 7.1.3. beschriebenen Methode wird die CMC der Solubilisatlösung, also des ternären Systems, bestimmt. In den dort erwähnten Literaturstellen wird diesem Umstand keine Rechnung getragen und die Autoren verwendeten den nach der Solubilisationsmethode ermittelten Wert als CMC der reinen Tensidlösung in Wasser. Die hier angewandte Methode des Interpolierens der Solubilisierkapazitätswerte bei verschiedenen Tensidkonzentrationen gilt nur für Solubilisatlösungen von Ciclosporin, in denen sich das Verhältnis der Solubilisierkapazität zur Tensidkonzentration linear verhält. Die Methode ist nur so genau, als bei gleichbleibender Temperatur die Solubilisierkapazitäten bestimmt werden können nach der in Abschn. E. 12.1.2. beschriebenen Methode. Diese Bestimmungsmethode kann keine genauen CMC-Werte liefern, vermag aber einen Hinweis zu geben auf den Bereich der CMC der Solubilisatlösung. Die analytisch sehr viel genauere Methode der Lichtstreumessung ergab für Ciclosporin solubilisiert in L-1695<sup>R</sup> einen tieferen CMC-Wert als der mit der Oberflächenspannungsmessung ermittelte Wert der reinen Tensidlösung. Als Erklärung kann angeführt werden, dass eine Lösungsverbesserung bereits unterhalb der CMC eintreten kann [23] (Abschn. D. 3.5.1.). Von Chvala [51] stammt der Ausdruck "Vormizelle" (= Prämizelle) für ein sehr labiles, lockeres Mizell-Vorstadium, das rasch eine grosse Zahl geballter Einzelmoleküle an die Stellen grenzflächenaktiven Geschehens nachliefern kann. Diese Vormizellen, die nach Chvala bei Verringerung der Konzentration gewissermassen explosionsartig zerplatzen, enthalten etwa hundert oder mehr Monomere, die von einem monomolekularen Wasserfilm umgeben sind. Hüttenrauch [49] wies darauf hin, dass die Prämizellen in Grösse und Gestalt von den stabilen Mizellen abweichen. Aufgrund der Lichtstreumessresultate konnte angenommen werden, dass Ciclosporin in L-1695<sup>R</sup> bereits unterhalb der CMC der reinen Tensidlösung durch Monomere in der Löslichkeit verbessert wird. Thakkar und Hall [181] konnten in den von ihnen untersuchten Solubilisatsystemen ebenfalls eine Löslichkeitsverbesserung unterhalb der CMC nachweisen [26]. Andere Literaturstellen [175] [179] [182] berichteten allerdings von erst bei CMC einsetzenden Solubilisationen.

## 8.1. Bestimmung mit HPLC

### 8.1.1. Aufgabe

Greenwald und Mitarbeiter [183] haben versucht, den HLB eines Tensids mittels Bestimmung seines Verteilungskoeffizienten zwischen Wasser und Paraffin zu bestimmen. Sie haben festgestellt, dass eine Korrelation zwischen dem HLB und den Verteilungskoeffizienten besteht, sofern das Tensid in Konzentrationen wenig unterhalb seiner CMC eingesetzt wird. Der Verteilungskoeffizient einer Substanz kann nebst der Ausschüttelmethode auch mittels HPLC bestimmt werden [184] [185] [186]. Zwischen den Verteilungskoeffizienten, bestimmt nach der Ausschüttelmethode, und dem Retentionsvolumen, extrapoliert auf einen Wasseranteil von 100 % im Fliessmittel, besteht eine lineare Beziehung.

Es sollte nun hier überprüft werden, ob eine lineare Beziehung auch zwischen dem HLB-Wert eines Tensids und seinen durch Extrapolation erhaltenen Retentionsvolumina besteht.

### 8.1.2. Prinzip

Ein Tensid, dessen HLB bekannt ist, wird über eine Umkehrphasensäule isokratisch mit mobilen Phasen von steigendem Wasseranteil chromatographiert. Die Retentionszeiten werden gegen den Prozentanteil Wasser im Fliessmittel aufgetragen und durch Extrapolation mit Regressionsrechnung die Retentionszeit des Tensides in reinem Wasser bestimmt. Das Verhältnis des HLB-Wertes zur extrapolierten Retentionszeit wird bei mehreren amphiphilen Stoffen überprüft.

### 8.1.3. Wahl des Systems und der Tenside

Die Tenside wurden aus Gruppen ähnlicher Molekülstrukturen ausgewählt, wobei sowohl ionische als auch nichtionische untersucht wurden. Um die Tenside mittels UV detektieren zu können, wurden solche möglichst mit einem Chromophor gewählt. Aus dem Angebot von Tensiden, das zur Verfügung stand, wurden Stoffe ausgelesen, die in hoher Reinheit als Monosubstanzen vorlagen. Da die meisten handelsüblichen Tenside, insbesondere die Ethylenoxidaddukte, undefinierte Gemische darstellen (Abschn. E. 5.3.), wurde auch mit solchen Stoffen geprüft, ob die HPLC-Methode zur HLB-Bestimmung sinnvoll ist. Um eine echte Verteilungchromatographie durchführen zu können, wurde eine Umkehrphasensäule RP-18 gewählt, der jeweils maximal etwa 30 µg Substanz aufgegeben wurden. Um eine so geringe Probemenge an chromophorarmem Tensid mit UV noch detektieren zu können, musste in kurzweligen Bereichen < 210 nm gemessen werden. Deshalb waren Fliessmittel nötig, die eine qualitative Bestimmung in diesem Bereich noch zu lassen. Die verwendeten organischen Lösungsmittel mussten mit Wasser bis zu

einem Verhältnis 1:1 mischbar sein und das zu untersuchende Tensid durfte bei keinem Mischungsverhältnis ausfallen. In Vorversuchen wurde ermittelt, dass die chromatographierten Tenside selbst bei höherem Wasseranteil im Fliessmittel nur dann noch vernünftige Retentionszeiten zeigten, wenn bei höherer Säulentemperatur (70°C) gearbeitet und dem Fliessmittel ein Anteil an Isopropanol zugesetzt wurde [187].

Es wurden die folgenden Tenside untersucht:

**Tabelle 9:**

Cholesterinderivate als Modelltenside zur Bestimmung mittels HPLC.

Cholesterinderivate	HLB	Tensidtyp
Cholesterin	1 <sup>1)</sup>	nichtionisch
Cholesterinhemisuccinat	6,5 <sup>2)</sup>	anionisch
Cholesterinhemisuccinat, Natrium-Salz	- 9 <sup>3)</sup>	anionisch
Cholesterinhemisuccinat, Tris-Salz	- 11 <sup>3)</sup>	anionisch
Cholesterinhemisuccinat, Morpholin-Salz	- 11 <sup>3)</sup>	anionisch
Cholesterin, polyethoxiliert (24 EO)	14,5 <sup>2)</sup>	nichtionisch

Mit RI-Detektion (Refraktionsindex-Messung) wurden die folgenden Tenside untersucht:

**Tabelle 10:**

Stearinsäurederivate als Modelltenside zur Bestimmung mittels HPLC.

Stearinsäurederivate	HLB	Tensidtyp
Saccharosemonoostearat S-1670 <sup>R</sup>	10,6 <sup>1,2)</sup>	nichtionisch
Cremophor <sup>R</sup> AP fest (9 EO)	11,6 <sup>1)</sup>	nichtionisch
Cremophor <sup>R</sup> EL (40 EO)	13,3 <sup>1)</sup>	nichtionisch
Myrij <sup>R</sup> 52 (40 EO)	16,9 <sup>1)</sup>	nichtionisch
Myrij <sup>R</sup> 53 (50 EO)	17,9 <sup>1)</sup>	nichtionisch

**Tween<sup>R</sup>-Produkte als Modelltenside zur Bestimmung mittels HPLC.**

Tween <sup>R</sup> -Produkte	HLB	Lipophiler Tensidrest	Anzahl EO (Durchschnitt)
Tween <sup>R</sup> 61	10,1 <sup>1)</sup>	Stearinsäure	6
Tween <sup>R</sup> 85	11,0 <sup>1)</sup>	3 Ölsäure	18
Tween <sup>R</sup> 80	15,0 <sup>1)</sup>	Ölsäure	18
Tween <sup>R</sup> 20	16,7 <sup>1)</sup>	Laurinsäure	18

<sup>1)</sup> Literaturwert.

<sup>2)</sup> Eigene Bestimmung nach der Emulsionsvergleichsmethode von Abschn. E. 8.2.4.

<sup>3)</sup> Eigene Bestimmung aufgrund der Wasserlöslichkeit des Tensids nach Tabelle 2.

#### **8.1.4. Cholesterinderivate**

Alle Cholesterinderivate der Tabelle 9 waren Reinsubstanzen. Sie wurden bei den folgenden Bedingungen chromatographiert:

- Säule: Hyperchrome<sup>R</sup> NC, RP-18, 5 µm, Shandon ODS Hypersil, Länge 250 mm, Innendurchmesser 4,6 mm (Bischoff, D-Leonberg)
- System: Isokratisch
- Fliessmitteltemperatur: 30°C
- Säulentemperatur: 70°C
- Fliessmittel: Acetonitril/Isopropanol/Wasser in wechselnden Verhältnissen
- Fliessgeschwindigkeit: 1,3 ml/Minute
- Probenaufgabe: 20 µl, entsprechend ca. 2 µg
- Detektion: UV 203 nm
- Zur Bestimmung der Totzeit enthielten die Probelösungen Thioharnstoff.
- Gerät: Hewlett Packard<sup>R</sup> 1084 B

Begonnen wurde mit einer Fliessmittelzusammensetzung Acetonitril 75/Isopropanol 15/Wasser 10. Jede Fliessmitteländerung wurde so vorgenommen, dass diesem Ausgangsfliessmittel durch den Apparat mehr Wasser zudosiert wurde. Abgelesen wurden die Retentionszeiten des Hauptpeak in Minuten. Pro Tensid und Fliessmittelzusammensetzung wurden 3 Bestimmungen durchgeführt. Die Fliessmittelzusammensetzung wurde im Wassergehalt gesteigert von 10 bis 25 %. Für jedes Tensid wurden die Durchschnittsretentionszeiten pro Fliessmittelzusammensetzung gegen den Prozentanteil Wasser im Fliessmittel aufgetragen. Dabei wurde festgestellt, dass bei allen Cholesterinderivaten im Bereich 10 bis 22,5 % Wasseranteil im Fliessmittel das Verhältnis direkt proportional war. Ab

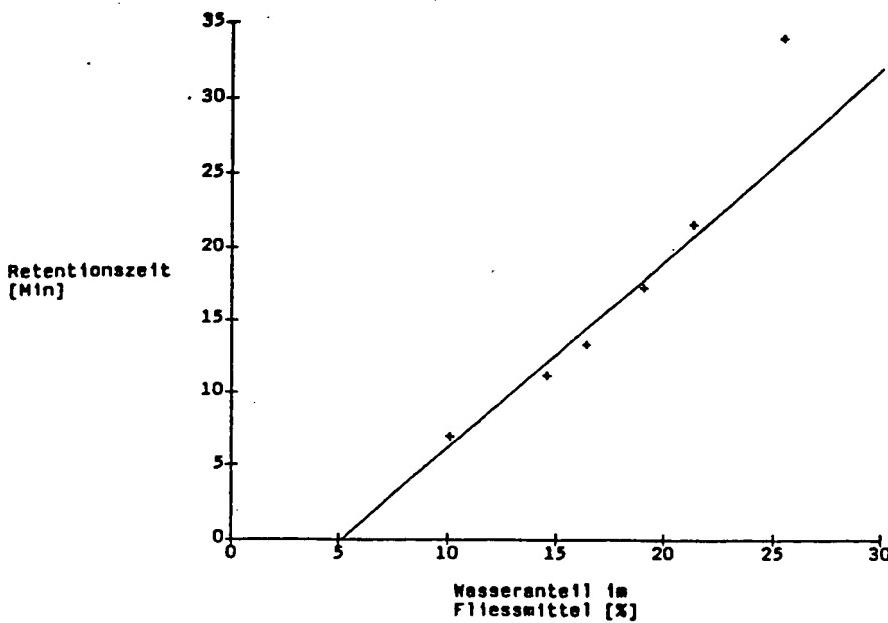
23 % Wasseranteil war bei allen Cholesterinderivaten eine starke Zunahme der Retentionszeiten festzustellen. Zur Extrapolation auf die Retentionszeit des Tensids bei einem Wasseranteil von 100 % im Fliessmittel wurden nur die Retentionszeiten der Chromatogramme mit einem Wasseranteil von 10 bis 22,5 % im Fliessmittel für alle Cholesterinderivate verwendet. Auch wurden bei allen Cholesterinderivaten die genau gleichen Chromatographierbedingungen eingehalten. Als Beispiel wurden für Cholesterinhemisuccinat folgende Werte erhalten:

**Tabelle 12:**

Retentionszeitwerte von Cholesterinhemisuccinat bei unterschiedlichen Wasseranteilen im Fliessmittel.

Wasseranteil im Fliessmittel	Retentionszeit (Durchschnitt aus 3 Bestimmungen)
10 %	7,06 Min.
14,5 %	11,18 Min.
16,3 %	13,34 Min.
19,0 %	17,31 Min.
21,25 %	21,57 Min.
25,3 %	33,71 Min.

Die Werte der Tabelle 12 wurden in der Abbildung 10 dargestellt.



**Abbildung 10:**

Retentionszeitwerte von Cholesterinhemisuccinat im Verhältnis zum Wasseranteil im Fliessmittel. Werte der Tabelle 12.

Die Regressionsgerade wurde nur durch die Retentionszeitwerte bei einem Wasseranteil von 10 bis 22,5 % gelegt.

Die Steigung der Geraden beträgt 1,27, der y-Achsenabschnitt ist - 6,58. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,986. Durch Regressionsrechnung liess sich mit diesen Werten eine extrapolierte Retentionszeit von 120,96 Minuten für Cholesterinhemisuccinat errechnen.

Auf dieselbe Weise unter denselben Chromatographierbedingungen wurden für die Cholesterinderivate der Tabelle 9 folgende Werte ermittelt:

**Tabelle 13:**

Extrapolierte Retentionszeiten der untersuchten Cholesterinderivate.

Cholesterinderivate	Extrapolierte Retentionszeiten
Cholesterin	134,41 Min.
Cholesterinhemisuccinat	120,96 Min.
Cholesterinhemisuccinat, Natrium-Salz	91,22 Min.
Cholesterinhemisuccinat, Tris-Salz	73,72 Min.
Cholesterinhemisuccinat, Morpholin-Salz	74,42 Min.
Cholesterin, polyethoxiliert	112,96 Min.

Abbildung 11 zeigt die extrapolierten Retentionszeiten jedes Cholesterintensids gegen seinen HLB aufgetragen.

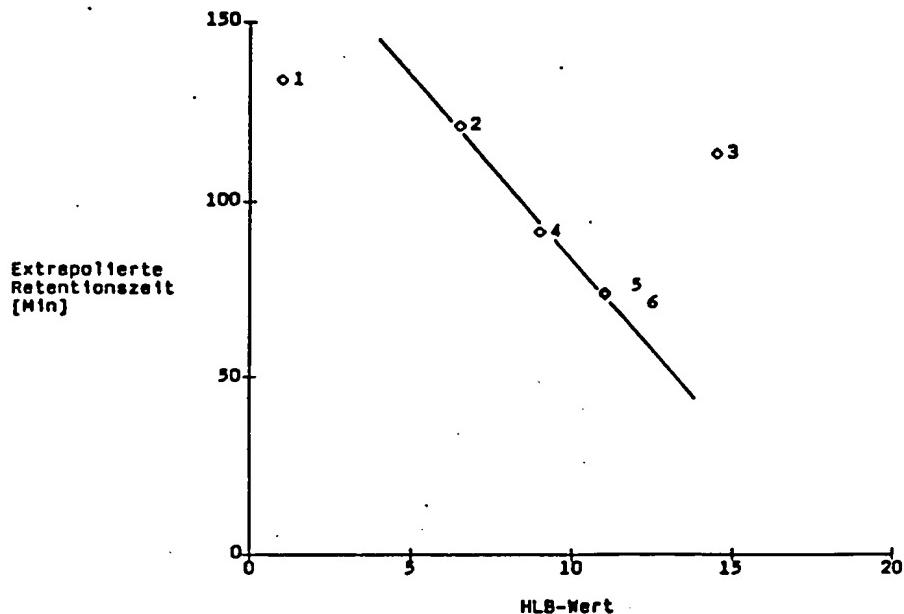


Abbildung 11:

Extrapolierte Retentionszeiten der untersuchten Cholesterintenside im Verhältnis zu ihren auf anderem Wege ermittelten HLB-Werten.

(1) Cholesterin, (2) Cholesterinhemisuccinat, (3) polyethoxiliertes Cholesterin, (4) Cholesterinhemisuccinat Natrium-Salz, (5) Cholesterinhemisuccinat Morpholin-Salz, (6) Cholesterinhemisuccinat Tris-Salz.

#### 8.1.5. Tween<sup>R</sup>-Produkte

Die Tween<sup>R</sup>-Produkte der Tabelle 11 wurden mit der Hyperchrome<sup>R</sup> NC-Säule chromatographiert und mit RI unter folgenden Bedingungen detektiert:

- System: Isokratisch
- Fliessmitteltemperatur: 23°C
- Säulentemperatur: 23°C
- Fliessmittel: Aceton/Wasser in wechselnden Verhältnissen
- Fliessgeschwindigkeit: 1,0 ml/Minute
- Probenaufgabe: 20 µl, entsprechend ca. 30 µg
- Detektion: RI-ERC-7510  
0,5 mV, 23°C
- Zur Bestimmung der Totzeit enthielten die Probelösungen Thioharnstoff.

Begonnen wurde mit einer Fliessmittelzusammensetzung Aceton 95/Wasser 5 und der Wasseranteil wurde gesteigert bis 25 %. Da alle Tween<sup>R</sup>-Produkte undefinierte Gemische waren, wurde die Retentionszeit der Peakverteilung bestimmt als Durchschnittswert der Retentionszeit des ersten und des letzten Peaks.

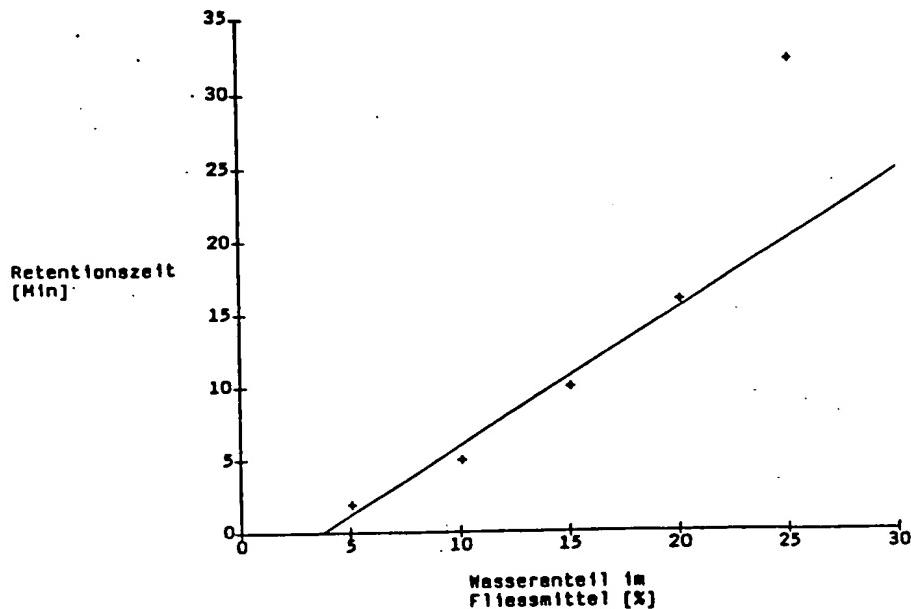
Für jedes Tensid wurden die Retentionszeiten pro Fliessmittelzusammensetzung gegen den Prozentanteil Wasser im Fliessmittel aufgetragen. Dabei wurde festgestellt, dass bei allen Tween<sup>R</sup>-Prdukten im Bereich 5 bis 20 % Wasseranteil im Fliessmittel das Verhältnis direkt proportional war. Bei höheren Wasseranteilen war auch hier feststellbar, dass die Retentionszeiten überproportional zunahmen. Zur Extrapolation auf die Retentionszeit des Tensids bei einem Wasseranteil von 100 % wurden nur die Retentionszeiten der Chromatogramme mit einem Wasseranteil von 5 bis 20 % verwendet. Bei allen Tween<sup>R</sup>-Produkten wurden dieselben Chromatographierbedingungen eingehalten. Als Beispiel wurden für Tween<sup>R</sup> 80 folgende Werte erhalten:

Tabelle 14:

Retentionszeitwerte von Tween<sup>R</sup> 80 bei unterschiedlichen Wasseranteilen im Fliessmittel.

Wasseranteil im Fliessmittel	Retentionszeit des Mittelpunktes der Peakverteilung
5 %	2 Min.
10 %	5 Min.
15 %	10 Min.
20 %	16 Min.
25 %	32 Min.

Die Werte der Tabelle 14 wurden in der Abbildung 12 dargestellt.

Abbildung 12:

Retentionzeitwerte von Tween<sup>R</sup> 80 im Verhältnis zum Wasseranteil im Fliessmittel. Werte der Tabelle 14.

Die Regressionsgerade wurde nur durch die Retentionszeitwerte bei einem Wasseranteil von 5 bis 20 % gelegt.

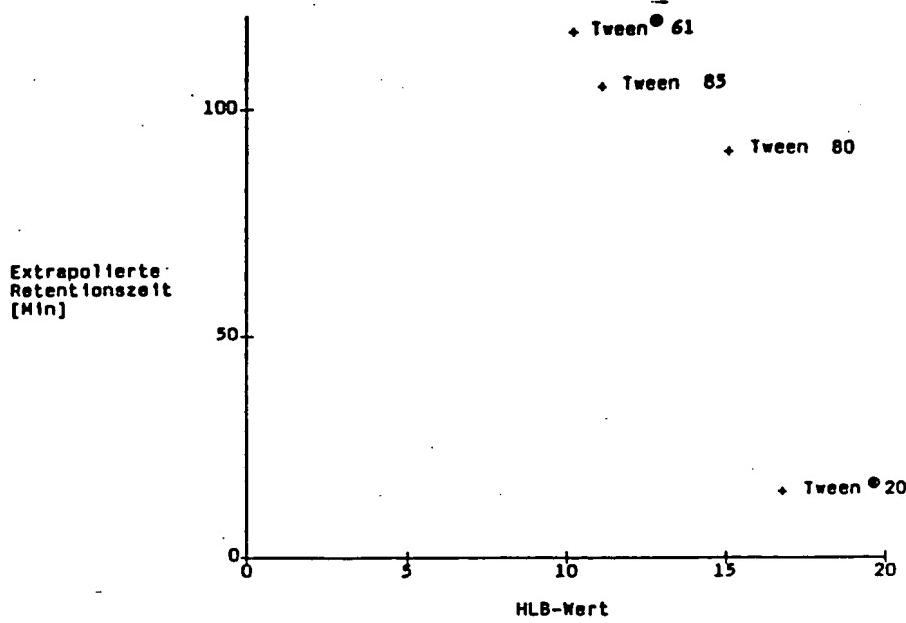
Die Steigung der Geraden beträgt 0,94, der y-Achsenabschnitt ist - 3,50. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,989. Durch Regressionsrechnung liess sich mit diesen Werten für Tween<sup>R</sup> 80 eine extrapolierte Retentionszeit von 90,50 Minuten errechnen. Auf dieselbe Weise unter denselben Chromatographierbedingungen wurden für die Tween<sup>R</sup>-Produkte der Tabelle 11 folgende Werte ermittelt:

Tabelle 15:

Extrapolierte Retentionszeiten der untersuchten Tween<sup>R</sup>-Produkte.

Tween <sup>R</sup>	Extrapolierte Retentionszeiten
Tween 61	116,0 Min.
Tween 85	104,25 Min.
Tween 80	90,50 Min.
Tween 20	14,87 Min.

Abbildung 13 zeigt die extrapolierten Retentionszeiten der Tween<sup>R</sup>-Produkte gegen ihren HLB aufgetragen.



**Abbildung 13:**

Extrapolierte Retentionszeiten der untersuchten Tween®-Produkte im Verhältnis zu ihren HLB-Werten der Literatur.

#### 8.1.6. Stearinsäurederivate

Die Stearinsäurederivate der Tabelle 10 wurden mit der Hyperchrome® NC-Säule chromatographiert und mit RI unter folgenden Bedingungen detektiert:

- System: Isokratisch
- Fliessmitteltemperatur: 23°C
- Säulentemperatur: 23°C
- Fliessmittel: Isopropanol/Wasser in wechselnden Verhältnissen
- Fliessgeschwindigkeit: 0,5 ml/Minute
- Probenaufgabe: 20 µl, entsprechend ca. 30 µg
- Detektion: RI-ERC-7510  
0,5 mV, 23°C
- Zur Bestimmung der Totzeit enthielten die Probelösungen Thioharnstoff.

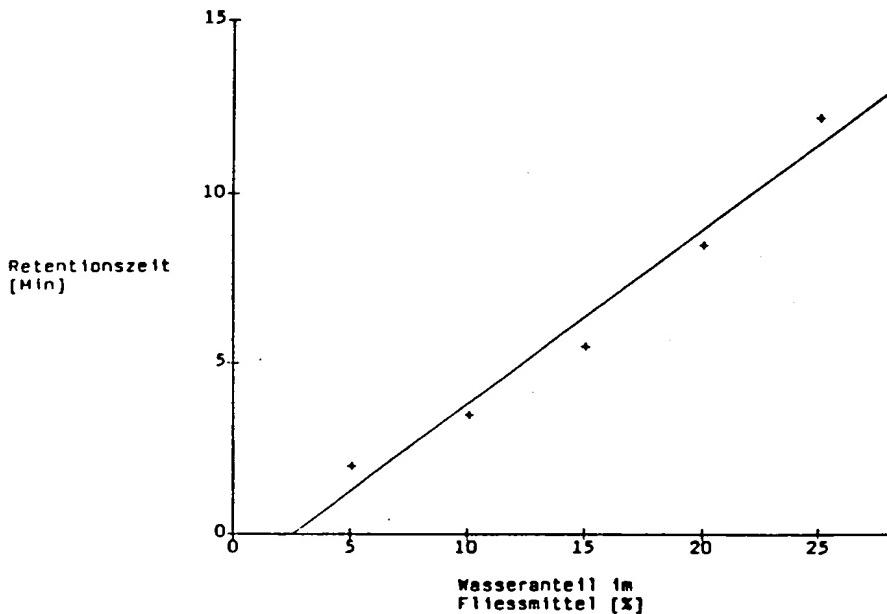
Die Fliessmittelzusammensetzung wurde variiert im Wassergehalt zwischen 5 und 25 %. Die Retentionszeiten der Tenside wurden bestimmt als Mittelwert der ersten und der letzten Retentionszeit der Peakverteilung, denn auch bei diesen Tensiden handelte es sich um undefinierte Gemische. Im untersuchten Wasseranteilbereich im Fliessmittel zeigten alle Stearinsäurederivate gute lineare Verhältnisse zu den Retentionszeiten, so dass zur Extrapolation die Retentionszeiten bei den Wasseranteilen von 5 bis 25 % im Fliessmittel verwendet wurden. Bei allen Tensiden wurden dieselben Chromatographierbedingungen eingehalten. Als Beispiel wurden für Saccharosemonostearat S-1670® folgende Werte erhalten:

**Tabelle 16:**

Retentionszeitwerte von Saccharosemonostearat S-1670<sup>R</sup> bei unterschiedlichen Wasseranteilen im Fliessmittel.

Wasseranteil im Fliessmittel	Retentionszeit des Mittelpunktes der Peakverteilung
5 %	2 Min.
10 %	3,5 Min.
15 %	5,5 Min.
20 %	8,5 Min.
25 %	12,25 Min.

Die Werte der Tabelle 16 wurden in der Abbildung 14 dargestellt.

**Abbildung 14:**

Retentionszeitwerte von Saccharosemonostearat S-1670<sup>R</sup> im Verhältnis zum Wasseranteil im Fliessmittel. Werte der Tabelle 16.

Die Steigung der Geraden beträgt 0,51, der y-Achsenabschnitt ist -1,30. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,983. Durch Regressionsrechnung liess sich mit diesen Werten eine extrapolierte Retentionszeit von 49,7 Minuten für Saccharosemonostearat S-1670<sup>R</sup> errechnen.

Unter denselben Chromatographierbedingungen wurden für die Stearinsäurederivate der Tabelle 10 die folgenden Werte ermittelt:

Tabelle 17:

Extrapolierte Retentionszeiten der untersuchten Stearinsäurederivate.

Stearinsäurederivate	Extrapolierte Retentionszeiten
Saccharosemonostearat S-1670 <sup>R</sup>	49,70 Min.
Cremophor <sup>R</sup> AP fest	76,35 Min.
Cremophor <sup>R</sup> EL	22,13 Min.
Myrij <sup>R</sup> 52	37,80 Min.
Myrij <sup>R</sup> 53	33,87 Min.

Abbildung 15 zeigt die extrapolierten Retentionszeiten der Stearinsäurederivate gegen ihren HLB aufgetragen.

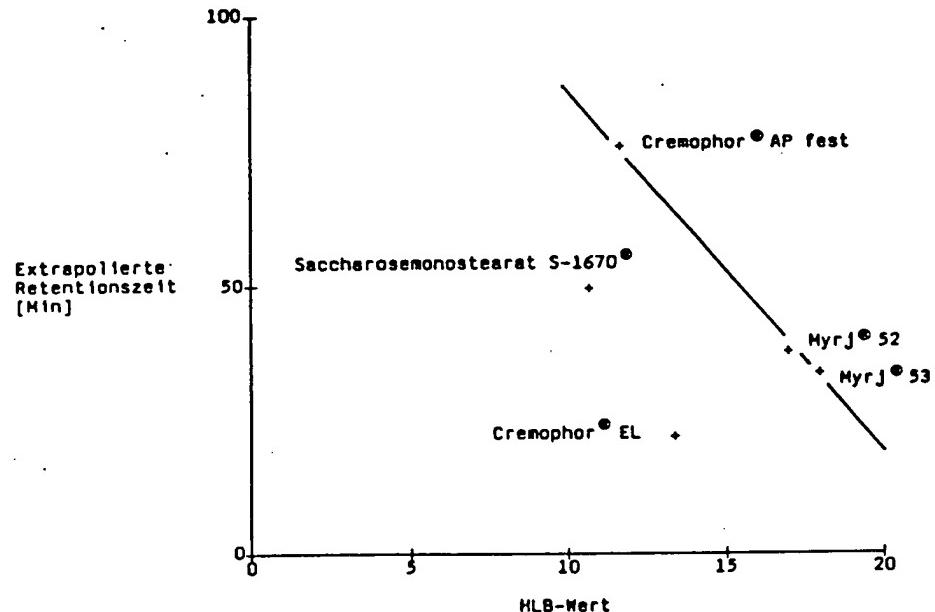


Abbildung 15:

Extrapolierte Retentionszeiten der untersuchten Stearinsäurederivate im Verhältnis zu ihren HLB-Werten der Literatur.

#### 8.1.7. Diskussion

Das isokratische Chromatographieren der untersuchten Tenside zeigte, dass sich nicht über den ganzen Bereich des Wasseranteiles von 0 bis 100 % im Fliessmittel die Retentionszeiten linear verhalten. Ab etwa 20 % Wasseranteil im Fliessmittel stieg die Retentionszeit bei diesen Versuchsbedingungen stark an. Die Extrapolation auf die Retentionszeit bei einem Wasseranteil von 100 % kann

mittels Regressionsgerade nur aus denjenigen Retentionszeiten berechnet werden, die man durch Variation des Wasseranteiles im Fliessmittel innerhalb eines engen Bereiches erhält. Eine weitere Schwierigkeit stellt die Detektion der chr matographierten Tenside und die Bestimmung der Retentionszeit einer Peakverteilung in den Chromatogrammen der undefinierten Substanzgemische dar. Die Untersuchung hat gezeigt, dass die extrapolierten Retentionszeiten nur unter Tensiden ähnlicher Molekülstruktur miteinander in Bezug gebracht werden können. Aus der Abbildung 11 geht hervor, dass sogar innerhalb der Tensidgruppe mit derselben Molekülstruktur nur die ionischen Tenside und separat dazu die nichtionischen Tenside miteinander verglichen werden können. So konnte für Cholesterinhemisuccinat, sein Natrium-, Morpholin- und Tris-Salz eine gute Linearität im Verhältnis der extrapolierten Retentionszeiten zu den HLB-Werten festgestellt werden. Dieselbe Feststellung wurde auch bei der homologen Reihe der nichtionischen Tenside Cremophor<sup>R</sup> AP fest, Myrj<sup>R</sup> 52 und Myrj<sup>R</sup> 53 (Abbildung 15) gemacht. Bei der Verteilungschromatographie spielt auch die Molekülgrösse des Tensids eine entscheidende Rolle.

Den hohen extrapolierten Retentionszeitwert von Cholesterin kann man mit seiner starken Lipophilie begründen (Abbildung 11). Der wider Erwarten hohe Wert beim sehr gut wasserlöslichen polyethoxilierten Cholesterin kann auf seine Molekülgrösse zurückgeführt werden. Die Methode der HLB-Bestimmung mittels HPLC ist nur innerhalb einer homologen Tensidreihe möglich. Da je nach Chromatographierbedingungen andere Retentionszeiten erhalten werden, muss unter denselben Bedingungen eine Reihe von strukturähnlichen Tensiden mit bekannten HLB-Werten chromatographiert werden. Sich in der Molekülgrösse stark unterscheidende Tenside derselben Klasse können nicht sinnvoll miteinander in Bezug gebracht werden (Abbildung 13). Eine bereits geringe Veränderung im lipophilen Tensidmolekülteil verunmöglichte ebenfalls eine sinnvolle Beziehung. Der extrapolierte Retentionszeitwert von Cremophor<sup>R</sup> EL mit seiner zusätzlichen Hydroxilgruppe konnte nicht mit den Werten von Cremophor<sup>R</sup> AP fest, Myrj<sup>R</sup> 52 und 53 verglichen werden. Die geringe extrapolierte Retentionszeit von Cremophor<sup>R</sup> EL im Vergleich zu Myrj<sup>R</sup> 52 und 53 kann mit der wesentlich höheren Wasserlöslichkeit von Cremophor<sup>R</sup> EL erklärt werden. Marszall [137] konnte belegen, dass selbst nach der Berechnungsmethode von Davies der HLB von im lipophilen Molekülteil substituierten Tensiden nicht mehr berechnet werden kann. Der Wert des Saccharosemonostearat S-1670<sup>R</sup> konnte mit den anderen Stearinsäurederivaten nicht in Bezug gebracht werden, da dieses Tensid einer anderen nichtionischen Tensidklasse angehört.

für zwei homologe Reihen von Tensiden derselben Klasse ähnlicher Molekulargröße und -struktur war es möglich, einen sinnvollen Bezug zwischen dem auf 100 % Wasseranteil extrapolierten Retentionszeitwert und dem HLB aufzuzeigen. Das Verhältnis zeigte bei den Cholesterinhemisuccinatderivaten (Abbildung 11) und bei den polyethoxilierten Stearinsäurederivaten (Abbildung 15) gute Linearität. Die Methode der Bestimmung des extrapolierten Retentionszeitwertes eines Tensids stellt eine Möglichkeit dar, den HLB zu bestimmen. Diese Methode bedingt aber das Vorhandensein einer homologen Reihe von Tensiden derselben Molekülstruktur, von denen der HLB aufgrund anderer Bestimmungsmethoden bereits bekannt ist. Diese Methode eignet sich nicht zur schnellen HLB-Bestimmung. Das Finden geeigneter Chromatographierbedingungen ist sehr zeitaufwendig und die Bestimmungsmethode selber arbeitsintensiv. Der Einsatz der RI-Detektion hat sich bewährt, um nur geringe Probemengen auf die Säule geben zu müssen, um die Bedingungen der Verteilungschromatographie gewährleisten zu können. Diese Detektionsart ist allerdings auf Schwankungen der Temperatur und der Flüssigmittelzusammensetzung stark störungsanfällig.

## **8.2. Bestimmung mit Emulsionsvergleichsmethode**

### **8.2.1. Prinzip**

Mit Hilfe der Emulsionsvergleichsmethode lassen sich HLB-Werte von allen oberflächenaktiven Stoffen, auch solchen ionischer Natur, ermitteln. Hierzu werden mit dem zu untersuchenden Tensid in bestimmten Verhältnissen Emulsionen in Verbindung mit einem Emulgator, dessen HLB-Wert bekannt ist, und einem Öl, dessen erforderlicher HLB-Wert ebenfalls vorliegt, hergestellt. Von dem Tensid, dessen HLB festgestellt werden soll, wird der ungefähre Wert zunächst durch Schätzung aufgrund der Wasserlöslichkeit nach Tabelle 2 festgelegt. Ist die Substanz z.B. hydrophil, wird als zweiter Emulgator zur Durchführung der Testserie ein lipophiler Emulgator mit bekanntem HLB ausgewählt und umgekehrt. Wenn durch Emulsionsserien das optimale Verhältnis beider Emulgatoren bestimmt worden ist, kann der unbekannte HLB-Wert nach einer Gleichung, die auf dem Additivitätsprinzip des HLB beruht (Abschn. D. 4.1.), errechnet werden:

$$HLB = \frac{a - (b \cdot c)}{d} \quad (\text{Gleichung 10})$$

a = Erforderlicher HLB-Wert des Öles, der bekannt sein muss.

b = HLB-Wert des zweiten Emulgators, der bekannt sein muss.

c = Gewichtsprozent des zweiten Emulgators, ausgedrückt als Dezimalzahl.

d = Gewichtsprozent des Emulgators, dessen HLB bestimmt werden soll, ausgedrückt als Dezimalzahl.

### 8.2.2. Erforderlicher HLB des Öles

Der erforderliche HLB (required HLB) einer lipophilen Substanz ist derjenige Wert, den ein Emulgator bzw. eine Emulgatormischung aufweisen muss, damit das betreffende Lipid mit Wasser eine Emulsion in optimaler Stabilität liefert. Im allgemeinen kommen einem Lipid zwei erforderliche HLB-Werte zu, einer für O/W- und einer für W/O-Systeme. Die erforderlichen HLB-Werte sind keine Stoffkonstanten. Sie können je nach Reinheit und Herkunft des Öles und je nach Bestimmungsmethode variieren [140]. Für eine Reihe häufig verwendeter Öle und Fette haben Griffin [129] [135] sowie Petrowski und Vanatta [145] den erforderlichen HLB bestimmt.

### 8.2.3. Wahl der Substanzen und Methodenvalidierung

Als zu emulgierendes Öl wurde dickflüssiges Paraffin verwendet. Es war in der von der Ph. Eur. geforderten Reinheit verfügbar und hatte den Vorteil, nicht flüchtig zu sein. Die Herstellung von stabilen Emulsionen mit Paraffinöl gestaltet sich sehr schwierig. Mit der Emulsionsvergleichsmethode wurde der erforderliche HLB-Wert des verwendeten Paraffinöls als 10,0 für O/W-Emulsionen bestimmt. Es wurden Bestimmungen mit mehreren Emulsionsreihen durchgeführt, bei denen immer wieder andere Emulgatoren im Emulgatorgemisch verwendet wurden: Span<sup>R</sup> 60/Tween<sup>R</sup> 20; Span<sup>R</sup> 60/Natriumoleat; Span<sup>R</sup> 60/Tween<sup>R</sup> 80; Span<sup>R</sup> 85/Tween<sup>R</sup> 20. Dabei wurde festgestellt, dass mit der Emulsionsvergleichsmethode der HLB-Wert mit einer Genauigkeit von  $\pm 0,5$  bestimmt werden konnte. Um in einer Emulsionsreihe die stabilste Emulsion schneller feststellen zu können, um in kürzerer Zeit Resultate zu erhalten, wurde versucht, die Emulsionen zu destabilisieren. Größere Elektrolytkonzentrationen in einer Emulsion vermögen im allgemeinen ihre Stabilität ungünstig zu beeinflussen [131]. Unter Verwendung von 20 %iger NaCl-Lösung als Wasserphase der Emulsion gelang es, die Entmischung der Emulsionen zu beschleunigen, wobei die Geschwindigkeit der Destabilisierung davon abhängig war, wie gut der HLB der Emulgatormischung mit dem erforderlichen HLB des Öles übereinstimmte. Bei den Bestimmungen des erforderlichen HLB von Paraffinöl wurde die folgende Emulsionszusammensetzung als am geeignetesten ermittelt:

43,5 % Paraffinöl, 0,5 % Emulgatorgemisch, 56 % Wasser oder 20 %ige NaCl-Lösung. Bei der Verwendung verschiedener Emulgatoren wurde festgestellt, dass für Paraffinöl immer derselbe erforderliche HLB ermittelt wurde, unabhängig davon, ob der Emulgator ionisch oder nichtionisch war, und ob sich ein oder beide Emulgatoren in einer der beiden Phasen vollständig lösten. Eine HLB-Bestimmung nach der Methode des Emulsionsvergleiches war möglich, ohne die Emulgatoren vor dem Homogenisieren in einer der beiden Phasen vollständig in Lösung zu bringen. Auch Middleton [139] hat gezeigt, dass eine vollständige Löslichkeit der Emulgatoren in einer der Phasen nicht erforderlich war. Als

unterschiede zwischen den Emulsionen wurden mit diesem lipophilen Emulgator am deutlichsten. Die Destabilisierung der Emulsionen konnte durch Behandlung im Autoklav bei 121°C während 20 Minuten in den meisten Fällen erfolgreich beschleunigt werden. Nach dieser Behandlung erwiesen sich die Unterschiede in der Emulsionsstabilität zudem deutlicher.

#### **8.2.4. Bestimmungen mit der validierten Methode**

Zur Bestimmung des HLB eines Tensids D wurden zwei Reihen von Emulsionen folgender Zusammensetzung erstellt:

27,75 g Paraffinöl

0,25 g Emulgatorgemisch aus D und einem Emulgator C mit bekanntem HLB in wechselnden Verhältnissen nach Berechnung mit den Gleichungen 11 und 12.

28,00 g Wasser in Reihe 1 oder 20 %ige NaCl-Lösung in Reihe 2.

Die Emulsionsbestandteile wurden nacheinander eingewogen und 24 Stunden stehen gelassen, bevor sie homogenisiert wurden. Die stabilste Emulsion wurde in jeder Reihe in Zeitabständen von 5 Minuten im diffusen Gegenlicht aufgrund folgender Kriterien ermittelt:

- feinste Tröpfchen
- unscharfe Phasengrenze
- kleinster Anteil an sichtbar abgetrennter Wasserphase
- trübst Wasserphase nach Phasentrennung
- leichteste Aufschüttelbarkeit und Wiederherstellbarkeit einer guten Emulsion.

Nach einer ersten Beurteilung der beiden Emulsionsreihen nach diesen Kriterien wurden dieselben Emulsionen anschliessend im Autoklav behandelt. Nach Abkühlung wurde eine zweite Beurteilung nach denselben Kriterien vorgenommen.

Der Anteil an Tensid D im Emulgatorgemisch wurde vor der Einwaage berechnet mit der Gleichung

$$d = \frac{a - b}{(HLB - b) \cdot 4} \quad (\text{Gleichung 11})$$

Der Anteil an Tensid C errechnete sich nach

$$c = 0,25 - d \quad (\text{Gleichung 12})$$

Die Variablen der Gleichungen 11 und 12 entsprechen denen der Gleichung 10. Bei den Emulsionsreihen wurden als lipophiler Emulgator das Span<sup>R</sup> 85 (HLB 1,8) und als hydrophiler Emulgator das Natrium laet (HLB 18,0) verwendet. Diese Emulsionsvergleichsmethode wurde mit dem polyethoxilierten Cholesterin (24 EO) überprüft.

Mit der Berechnung nach Chun und Martin (Abschn. D. 4.2.1.) wurde für dieses Tensid ein HLB von 14,47 erhalten. Mit der Messung der Grenzflächenspannung wurde für dieses Tensid ein HLB von 14,6 bestimmt. Mit dieser Emulsionsvergleichsmethode wurde für das polyethoxilierte Cholesterin ein HLB von 14,5 ermittelt.

Nach dieser Methode wurde der HLB für weitere Tenside wie folgt ermittelt:

**Tabelle 18:**

Mit der validierten Emulsionsvergleichsmethode bestimmte HLB-Werte von Tensiden.

Tensid	Ermittelter HLB ( $\pm 0,5$ )	Literaturwerte
Cholesterinhemioxalat	4,5	-
Cholesterinhemisuccinat	6,5	-
Saccharosedistearat S-170 <sup>R</sup>	7,0	7,0 [2] [5] [61] [188]
Saccharosemonostearat S-1670 <sup>R</sup>	10,5	10,6 [5] [189] 11,2 [2] [61]
Saccharosemonolaurat L-1695 <sup>R</sup>	13,0	12,3 [5] [190] 13,0 [2] [52] [61] [189]
Solutol <sup>R</sup> HS 15	13,5	-
Cremophor <sup>R</sup> EL	13,5	13,0 [53] [191] 13,3 [38] [189]

#### **8.2.5. Diskussion**

Die Bestimmungsmethode mittels Emulsionsvergleich hat den Vorteil, dass der HLB sowohl von ionischen als auch von nichtionischen Tensiden bestimmt werden kann, ohne strukturähnliche Referenzsubstanzen einzusetzen zu müssen wie bei einer chromatographischen HLB-Bestimmungsmethode. Zur Bestimmung jedes Tensids konnte nach dem immer gleichen Prinzip (Abschn. E. 8.2.4.) vorgegangen werden. Der Zeitaufwand zur HLB-Bestimmung eines Tensids nimmt zwei Arbeitstage in Anspruch. Es müssen ca. 5 g vom zu bestimmenden Tensid eingesetzt werden. Diese Emulsionsvergleichsmethode stellt ein taugliches Verfahren dar, den HLB innerhalb nützlicher Frist ohne grossen apparativen Aufwand mit gut reproduzier-

baren Werten bestimmen zu können. Das Prinzip der HLB-Bestimmung mittels Emulsionsvergleich ist zwar nicht neu. Mit der validierten Methode ist es aber gelungen, nach dem auf dem Stabilitätsvergleich beruhenden Prinzip ein beschleunigtes Verfahren zur Verfügung zu haben, das eine zuverlässige HLB-Bestimmung innerhalb von nur 2 Tagen erlaubt. Dies kann erreicht werden durch die wirkungsvolle Destabilisierung der Emulsionen, einerseits durch Elektrolytzugabe und andererseits durch Autoklavieren. Eine Emulsionsvergleichsmethode mit der Kombination dieser beiden Destabilisierungsmassnahmen wurde in der Literatur bisher nicht beschrieben.

## **9. Hämolysetest**

### **9.1. Bedeutung der Hämolyse**

Die bedeutendste toxische Erscheinung der Tenside ist ihre Hämolyseaktivität. Die Auflösung von Erythrozyten durch Zerstörung ihrer Zellmembran in Anwesenheit von oberflächenaktiven Substanzen und der Austritt des Hämoglobins sind bei intravenöser Applikation zu beachten. Die Hämolyse einer grösseren Anzahl Erythrozyten führt zur hämolytischen Anämie. Das Ausmass einer tolerierbaren Hämolyse durch einen intravenös applizierten Stoff ist begrenzt. Durch die Bestimmung der hämolytischen Aktivität einer Formulierung kann das Ausmass der Hämolyse abgeschätzt werden [192]. Es bestehen allerdings keine Anhaltspunkte betreffend eine Korrelation der Hämolyseaktivität *in vitro* und jener *in vivo*. Prohoroff und Beys [193] empfahlen für eine Reihe von intravenös zu applizierenden Handelsprodukten, die *in vitro* starke Hämolyseaktivität zeigten, einen Warnhinweis mit einer Aufforderung an den Benutzer, solche Formulierungen langsam zu injizieren. Intravenös applizierte Substanzen werden im ganzen Blutvolumen verteilt und die Konzentration sinkt schnell stark ab. So kann es sein, dass eine Substanz, die *in vitro* starke Hämolyse zeigt, im Körper nur noch geringe Hämolyse verursacht infolge Verdünnung in der Blutzirkulation [194]. Parenterale Formulierungen lassen sich sehr einfach durch chemisch-physikalische Parameter beschreiben. Damit lässt sich jedoch noch wenig über das Verhalten der Lösung gegenüber Zellen aussagen. So sind in physikalischer Hinsicht isoosmotische Lösungen dies nicht unbedingt auch in physiologischer Hinsicht [195] [196] [197]. Der Hämolysetest erweist sich hier als einfaches, leicht durchzuführendes Testverfahren, um Injektionslösungen durch ihr Verhalten gegenüber intakten Zellen (Erythrozyten) zu charakterisieren.

## 9.2. Bestimmung der Hämolyseaktivität

### 9.2.1. Prinzip

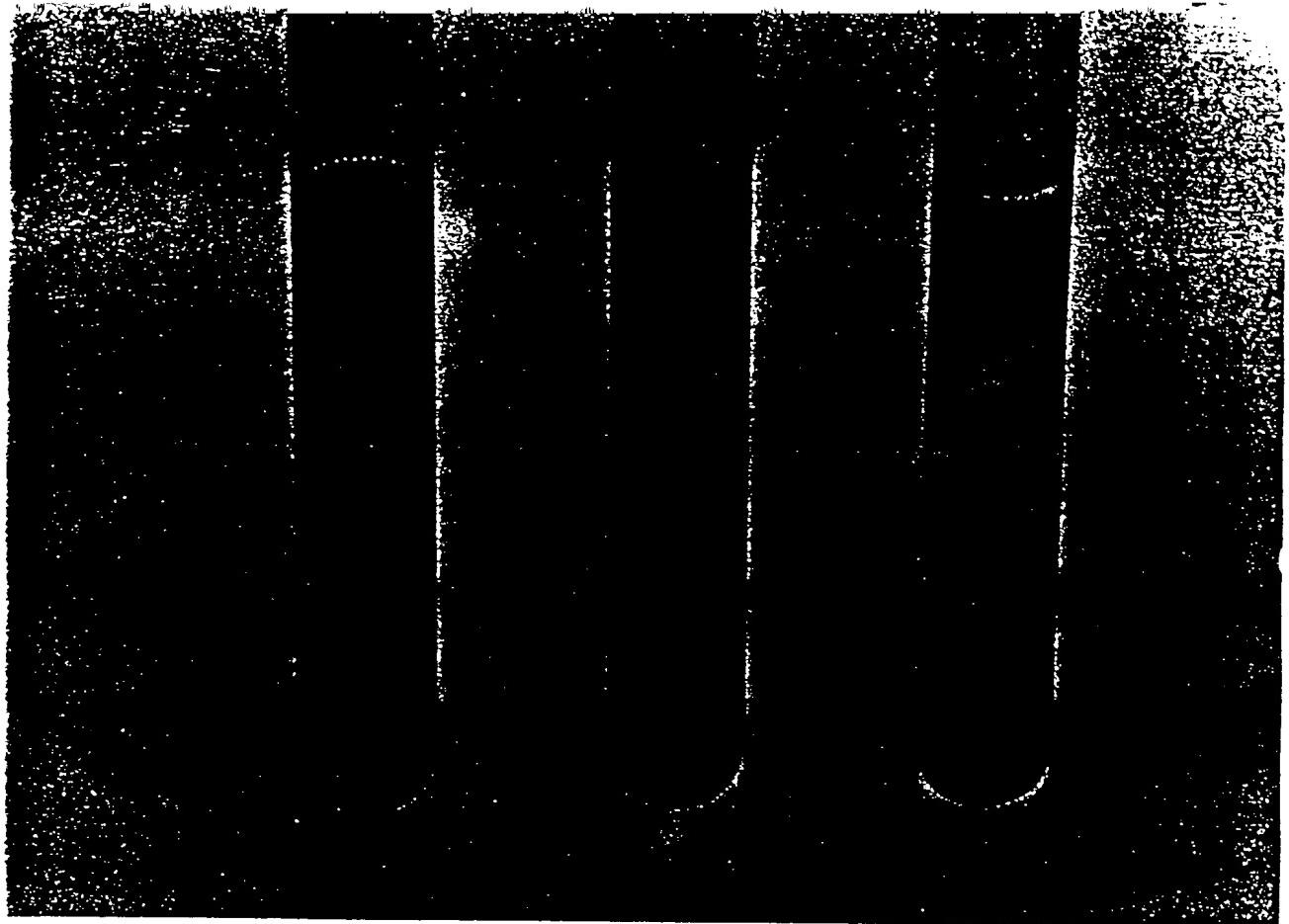
Zur Untersuchung der verwendeten Tenside auf ihre Hämolyseaktivität entwickelte ich eine eigene Bestimmungsmethode, die es erlaubt, sowohl sehr stark als auch nur schwach hämolytisch aktive amphiphile Substanzen charakterisieren zu können. Für die Hämolysetests wurde ausschließlich Humanblut verwendet, das ich mir selber entnehmen liess. Setnikar und Temelcou [197] haben nachgewiesen, dass sich Erythrozyten aus Kaninchen- und aus Menschenblut im identischen Hämolysetest gegenüber der gleichen Substanz nicht gleich verhalten. Das Prinzip meiner Testmethode beruht, im Gegensatz zu den üblichen Vorgehen, darauf, in bestimmten Zeitabständen und in verschiedenen konzentrierten Tensidlösungen die Hämolyse zu beurteilen und zu quantifizieren. Das Ausmass der Hämolyseaktivität eines Tensids wird in einer empirisch ermittelten Zahl ausgedrückt. Diese erlaubt, die Hämolyseaktivitäten verschiedener Tenside, die nach derselben Methode unter den gleichen Bedingungen ermittelt werden, miteinander in Bezug zu setzen. Es handelt sich um eine relative Bestimmungsmethode der Hämolyseaktivität von Tensiden.

### 9.2.2. Testmethode

Von dem auf seine Hämolyseaktivität zu untersuchenden Tensid werden vier Probelösungen in 0,9%iger NaCl-Lösung in den abfallenden Konzentrationen 10%, 1%, 0,1%, 0,01% bereitet. Es wird frisch gewonnenes venöses Humanblut, versetzt mit EDTA, verwendet. 5 ml Probelösung werden mit 50 µl Blut versetzt, dies entspricht einer Verdünnung von 1:100, im Wasserbad bei 37°C während einer bis vier Stunden inkubiert und anschliessend während 5 Minuten bei 1000 rpm zentrifugiert. Das Ausmass der Hämolyse wird subjektiv bewertet nach drei Stufen:

- = keine Hämolyse
- + = partielle Hämolyse
- ++ = totale Hämolyse

Diese drei Beurteilungsstufen sind in Abbildung 16 und 17 photographisch in Farbe wiedergegeben.



**Abbildung 16:**

Beurteilung der Hämolyseaktivität vor der Zentrifugation.

Die Probe links ist transparent und stellt eine totale Hämolyse dar. Die Probe in der Mitte wird durch intakte Erythrozyten leicht getrübt, eine partielle Hämolyse ist eingetreten. In der Probe rechts ist keine Hämolyse eingetreten und die intakten Erythrozyten sedimentieren.

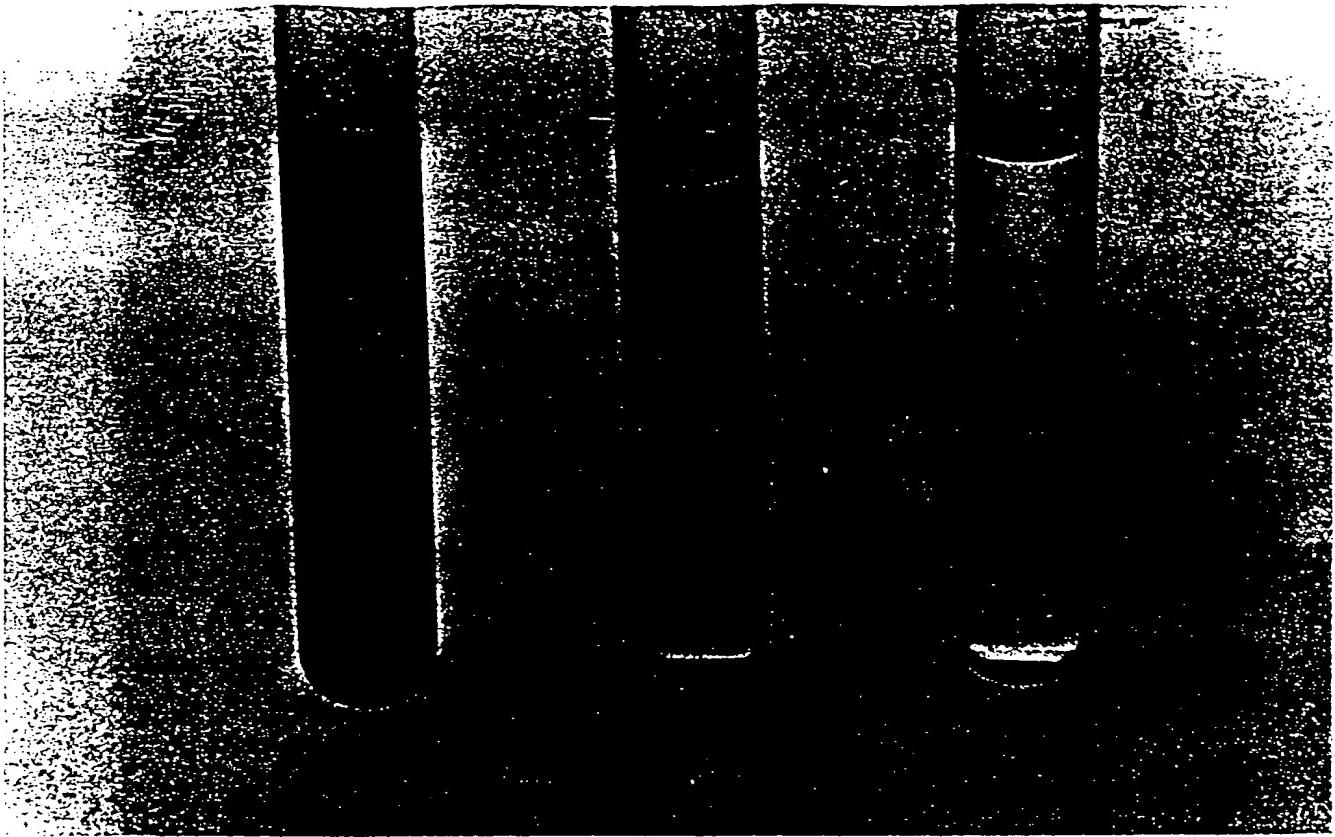


Abbildung 17:

Beurteilung der Hämolyseaktivität nach der Zentrifugation.

Durch das Zentrifugieren der Proben ist die Beurteilung erleichtert. In der Probe links ist eine totale Hämolyse eingetreten, die Lösung ist durch das ausgetretene Hämoglobin rot gefärbt. Die Probe in der Mitte stellt eine partielle Hämolyse dar mit einem Sediment an intakten Erythrozyten und der leicht rot gefärbten überstehenden Lösung. In der Probe rechts ist keine Hämolyse eingetreten. Alle Erythrozyten sedimentieren und die überstehende Lösung bleibt farblos.

Zudem werden die hämolierten Proben auf zusätzlich eingetretene Blutdenaturierung untersucht. Sie zeigt sich in einer Braunfärbung der Lösung an. Die Beurteilung der Proben wird sofort nach Blutzugabe vorgenommen und dann wieder zu jeder weiteren Stunde nach Inkubationsbeginn. Das Ausmass der Hämolyse wird für jedes Tensid in eine Tabelle eingetragen und die Gesamtzahl der Pluszeichen ermittelt, mit der die Hämolyseaktivität des untersuchten Tensids ausgedrückt wird. Die Hämolyseaktivität eines Tensids bewegt sich innerhalb einer dimensionslosen willkürlichen Skala von 0 bis 40. Je tiefer die Zahl, desto weniger hämolytisch aktiv ist das untersuchte Tensid in diesem in vitro Test. Beispiel: Hämolyseaktivität von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup>:

**Tabelle 19:**

Hämolyseaktivität von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup>.

Probelösung	Beurteilung nach				
	sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
10 %	++	++	++ D	++ D	++ D
1 %	++	++	++	++ D	++ D
0,1 %	++	++	++	++	++ D
0,01 %	-	+	+	+	+

Aufgrund dieser Tabelle kommt dem Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> eine Hämolyseaktivität von 34 zu. Aus der Tabelle 19 geht hervor, dass eine 10 %ige Lösung von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> nach einer zweistündigen Inkubation bei 37°C das Blut denaturiert. Das Reaktionsvermögen von L-1695<sup>R</sup> gegenüber Blut wird mit 34 D umschrieben, wobei D auf die Denaturierung hinweist.

### 9.2.3. Diskussion

Die von mir verwendete Testmethode zur Bestimmung der Hämolyseaktivität hat sich für eine Reihe von Tensiden gut bewährt. Mit dieser Methode ist es sinnvoll nur solche Tenside zu untersuchen, die sich in Wasser klar lösen oder in höheren Konzentrationen wenigstens noch dispergieren lassen. Obwohl bei dieser Methode das Ausmass der Hämolyse mit drei Stufen umschrieben wird, können selbst geringe Unterschiede in der Hämolyseaktivität von Tensiden zum Ausdruck gebracht werden. Sie liefert gut reproduzierbare Werte. Verschiedene Autoren versuchten ebenfalls, die Hämolyseaktivität von Substanzen oder Formulierungen mit einer Zahl auszudrücken, um so eine Vergleichsbasis zur Verfügung zu haben. Ponder [198] charakterisierte die Hämolyseaktivität von Tensiden steigender Konzentration nach Inkubation während 20 Minuten bei 37°C mit den Aktivitätsstufen keine, partielle oder totale Hämolyse. Mit Hilfe einer

col rimetrischen Methode bestimmten Ansel und Gigandet [194] die Intensität des freigesetzten Häm globins nach Inkubation während 45 Minuten bei 37°C. Surber [199] überführte das aus den zerfallenen Erythrozyten ausgetretene Hämoglobin in ein stabiles Derivat und bestimmte es spektrophotometrisch. Setnikar und Temelcou [197] drückten die Hämolyseaktivität als V lumen der n ch intakten Zellen nach einer 30 minütigen Zentrifugation in einem Hematokritglas aus. Mima [148] nahm als Mass für die Hämolyseaktivität die Zeit in Minuten, die verschieden konzentrierte Tensidlösungen brauchten, um bei 25°C eine totale Hämolyse zu verursachen. Kato und Mitarbeiter [200] ermittelten die höchste Verdünnung von Tensidlösungen, in denen sich nach Inkubation während 4 Stunden bei 37°C eine totale Hämolyse ergab. Die Ph. Eur. [201] enthält eine Prüfvorschrift auf Hämolyseaktivität, bei welcher die höchste Verdünnung ermittelt wird, die nach 6 Stunden Stehenlassen bei Raumtemperatur eine totale Hämolyse zeigt. Als Referenz verwendet die Ph. Eur. Saponin CRS als standardisierte Bezugssubstanz.

Gegenüber den in der Literatur beschriebenen Methoden zeichnet sich meine Bestimmung der Hämolyseaktivität durch ihre einfache Handhabung aus. Sie ist weder auf Reagenzien wie Komplexbildner oder standardisierte Referenzsubstanzen, noch auf ein Spektrophotometer angewiesen. Die Methode erlaubt, sowohl sehr stark als auch nur schwach hämolytisch aktive Tenside charakterisieren zu können. Sie berücksichtigt die Hämolyseaktivität sowohl in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration als auch von der Inkubationszeit bis zu vier Stunden, während der die Erythrozyten dem Tensid ausgesetzt sind. Eine solche Bestimmungsmethode wurde in der Literatur bisher nicht beschrieben.

## 10. Einfluss der Tensidmolekülstruktur auf die Hämolyseaktivität

### 10.1. Untersuchte Tenside und ihre Hämolyseaktivität

Nach der unter Abschn. E. 9.2.2. beschriebenen Testmethode wurden verschiedene Tenside aus den Gruppen der polyethoxilierten Fettsäuren, polyethoxilierten Sorbitanfettsäureester (Tween<sup>R</sup>-Produkte), Etheraddukte, Zuckerester, Seifen und der Polyglycerinester untersucht. Die Hämolyseaktivität wurde mit einer dimensionslosen Zahl zwischen 0 und 40 ausgedrückt und mit dem Buchstaben D angezeigt, wenn das Tensid beim in vitro Test das Blut denaturierte. Die Hämolysebeurteilung pro Zeiteinheit und Konzentration jedes Tensids ist im Anhang (Abschn. H. 1.1.1.) zu finden.

20.  
Hämolyseaktivität von polyethoxilierten Fettsäuren.

	Polyethoxilierte Fettsäuren		Markennamen	Hämolyseaktivität
I	Stearinsäure	20 EO	Myrij 49	16 D
II	Stearinsäure	40 EO	Myrij 52	8
III	Stearinsäure	50 EO	Myrij 53	6
IV	12-Hydroxistearinsäure	15 EO	Solutol HS 15	7
V	12-Hydroxistearinsäure	18 EO		7
VI	12-Hydroxistearinsäure	40 EO	Cremophor RH 40	2
VII	12-Hydroxistearinsäure	60 EO	Cremophor RH 60	1
VIII	Ölsäure	20 EO		23 D
IX	Ölsäure	41 EO		11 D
X	Ricinolsäure	20 EO		8
XI	Ricinolsäure	40 EO	Cremophor EL	3

Tabelle 21:

Hämolyseaktivität von polyethoxilierten Sorbitanfettsäureestern.

	Polyethoxilierte Sorbitanfettsäureester		Markennamen	Hämolyseaktivität
XII	Laurinsäure	18 EO	Tween 20	24
XIII	Palmitinsäure	18 EO	Tween 40	15
XIV	Stearinsäure	18 EO	Tween 60	13 D
XV	Ölsäure	18 EO	Tween 80	14 D

**Tabelle 22:**

Hämolyseaktivität von Etheraddukten.

	Etheraddukte		Markenname	Hämolyseaktivität
XVI	Oleylalkohol	20 EO	Brij 99	31 D
XVII	Cholesterin	24 EO		33

**Tabelle 23:**

Hämolyseaktivität von Saccharosemonoestern.

	Saccharosemonoester	Markennamen	Hämolyseaktivität
XVIII	Caprinsäure		24 D
XIX	Laurinsäure	L-1695	34 D
XX	Myristinsäure	M-1695	36
XXI	Palmitinsäure	P-1670	39
XXII	Stearinsäure		40 D
XXIII	Ölsäure		38 D

**Tabelle 24:**

Hämolyseaktivität von Raffinosemonoestern.

	Raffinosemonoester	Hämolyseaktivität
XXIV	Caprinsäure	15 D
XXV	Laurinsäure	28 D
XXVI	Ölsäure	29 D

**Tabelle 25:**

Hämolyseaktivität von Seifen.

	Seifen	Hämolyseaktivität
XXVII	Natriumoleat	40 D
XXVIII	Natriumricinoleat	35 D
XXIX	9,10-Dihydroxistearinsäure-Natriumsalz	31 D

**Tabelle 26:**  
Hämolyseaktivität von Polyglycerinestern.

	Polyglycerinester	Hämolyseaktivität
XXX	Mono-Polyglycerinester der Caprylsäure	32 D
XXXI	Mono-Polyglycerinester der Laurinsäure	25
XXXII	Decaglycerinmonolaurat	26
XXXIII	Mono-Di-Polyglycerinester der Myristinsäure	28

## 10.2. Interpretation der Resultate

### 10.2.1. Polyethoxilierte Fettsäuren

Bei den untersuchten polyethoxilierten Fettsäuren (Tabelle 20) konnte festgestellt werden, dass die Hämolyseaktivität der Tenside gleichen Fettsäurerestes abnimmt, je länger ihre EO-Kettenlänge im hydrophilen Tensidmolekülteil ist. Dies ging hervor aus dem Vergleich von (I, II, III) (IV, V, VI, VII) (VIII, IX) (X, XI).

Eine Hydroxilgruppe im lipophilen Tensidmolekülteil verhinderte die Hämolyseaktivität zu vermindern (I, V) (II, VI) (IX, XI) (VIII, X), wohingegen eine Doppelbindung eine Verstärkung der Hämolyseaktivität zur Folge hatte (VI, XI) (X, V) (IX, II) (VIII, I).

### 10.2.2. Polyethoxilierte Sorbitanfettsäureester

In der homologen Reihe der Tween<sup>R</sup>-Produkte (Tabelle 21) nahm die Hämolyseaktivität mit zunehmender Fettsäurekettenlänge ab (XII, XIII, XIV), doch konnte in dieser Versuchsreihe der Einfluss einer Doppelbindung in der Fettsäurekette (XIV, XV) nicht schlüssig ermittelt werden, da das Tween<sup>R</sup> 60 ab 0,1 % nicht vollständig gelöst vorlag.

### 10.2.3. Etheraddukte

Ein Vergleich der Hämolyseaktivität von Brij<sup>R</sup> 99 (XVI) mit der von Ölsäure + 20 EO (VIII) sowie der von polyethoxiliertem Cholesterin (XVII) mit der von Stearinsäure + 20 EO (I) zeigte für die Etheraddukte stärkere Hämolyseaktivität als für die Esteraddukte.

#### 10.2.4. Zuckerester

Bei den Saccharose- (Tabelle 23) und Raffinoseestern (Tabelle 24) konnte ein gegenteiliger Effekt der Verlängerung der Fettsäurekette auf die Hämolyseaktivität im Vergleich zu den Tween<sup>R</sup>-Produkten festgestellt werden. Bei den Zuckerestern nahm die Hämolyseaktivität mit der Länge der Fettsäurekette zu (XVIII-XXII) (XXIV-XXVI). Auch bei den Zuckerestern konnte kein starker Einfluss einer Doppelbindung ermittelt werden. Die Hämolyseaktivität eines Zuckeresters mit einer Doppelbindung war vermindert (XXII, XXIII).

#### 10.2.5. Seifen

Bei den Seifen (Tabelle 25) wurde insbesondere der Einfluss von Hydroxilgruppen untersucht und festgestellt, dass bereits eine Hydroxilgruppe im Fettrest die Hämolyseaktivität zu vermindern vermochte (XXVII, XXVIII) (XXVIII, XXIX).

#### 10.2.6. Polyglycerinester

Ein Vergleich von (XXXI, XXXII) zeigte, dass die Länge der Polyglycerinkette nur einen geringen Einfluss auf die Hämolyseaktivität hatte. Bei den Polyglycerinestern zeichnete sich dieselbe Tendenz wie bei den Tween<sup>R</sup>-Produkten ab, wo die Hämolyseaktivität mit zunehmender Fettsäurekettenlänge abnahm (XXX, XXXI).

#### 10.2.7. Vergleich der Hämolyseaktivität von Fettsäuretensiden unterschiedlicher hydrophiler Reste

Tabelle 27:

Hämolyseaktivität verschiedener Tenside mit demselben lipophilen Tensidteil: Laurinsäure.

Hydrophiler Tensidteil	Tensid	Hämolyseaktivität
Polyethoxiliertes Sorbitan	XII	24
Raffinose	XXV	28 D
Saccharose	XIX	34 D
Polyglycerin	XXXII	26

**Tabelle 28:**

Hämolyseaktivität verschiedener Tenside mit demselben lipophilen Tensidteil:  
Stearinsäure.

Hydrophiler Tensidteil	Tensid	Hämolyseaktivität
Polyethoxiliertes Sorbitan	XIV	13 D
Saccharose	XXII	40 D
Polyethylenglykol	I	16 D

**Tabelle 29:**

Hämolyseaktivität verschiedener Tenside mit demselben lipophilen Tensidteil:  
Ölsäure.

Hydrophiler Tensidteil	Tensid	Hämolyseaktivität
Polyethoxiliertes Sorbitan	XV	14 D
Raffinose	XXVI	29 D
Saccharose	XXIII	38 D
Polyethylenglykol	VIII	23 D
C <sub>20</sub> <sup>-</sup> Na <sup>+</sup>	XXVII	40 D

Es hat sich gezeigt, dass Polyethylenglykolester allgemein weniger hämolytisch aktiv sind als die Zuckerester. Die Seifen zeigten im Vergleich zu den Polyethylenglykolestern und den Zuckerestern starke Hämolyseaktivität. Bei den Zuckerestern waren die Raffinoseester weniger hämolytisch aktiv als die Saccharoseester.

#### 10.2.8. Blutdenaturierung

Unter allen untersuchten Tensidklassen befanden sich Tenside, die zusätzlich zur Hämolyse auch noch das Blut denaturierten. Die Ursache konnte bei keiner Tensidklasse auf die Tensidstruktur zurückgeführt werden. Die Blutdenaturierung durch Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> wurde untersucht. Gewaschene Erythrozyten wurden zu einer hämolytisch aktiven Lösung von L-1695<sup>R</sup> gegeben. Es zeigte sich Blutdenaturierung. Der Verdacht, dass die Ursache der Denaturierung in einer Komplexbildung des Hämoglobineisens mit Saccharose begründet liegt, konnte nicht erhärtet werden: Hämolysierte Erythrozyten zeigten nach Zugabe von Saccharose keine Denaturierung. Reines Saccharosemonolaurat (XIX a)

(Monoesteranteil > 95 %) zeigte keine Blutdenaturierung. Unter gleichen Bedingungen von der CEP synthetisiertes Saccharosemonoacrat (XVIII) denaturierte das Blut.

### 10.3. Diskussion

Bei den Polyethylenglykolestern und den Seifen zeigte eine Hydroxylgruppe im Fettsäurerest einen negativen Einfluss auf die Hämolyseaktivität. Bei der Planung eines Tensids kann es von Vorteil sein, eine Hydroxifettsäure als lipophilen Teil zu verwenden, um eine Verminderung der Hämolyseaktivität zu erzielen. Bei den polyethoxilierten Fettsäuren konnte der Doppelbindung im lipophilen Tensidteil eine Verstärkung der Hämolyseaktivität zugeschrieben werden. Denselben Effekt haben auch Mima und Mitarbeiter [202] sowie Lorenz und Mitarbeiter [41] beschrieben. Bei den Zuckesteren trat dieser Effekt einer Doppelbindung nicht sehr deutlich hervor. Es zeichnete sich im Gegenteil für diese Tensidklasse die Tendenz einer Hämolyseaktivitätsverminderung dank der Doppelbindung ab. Mima und Mitarbeiter [203] stellten bei Hämolysetests von Raffinosemonooleat im Vergleich zu Raffinosemonostearat fest, dass die hämolytische Aktivität von Raffinosemonooleat deutlich geringer war als die von Raffinosemonostearat. Der Einfluss der Fettsäurekettenlänge auf die Hämolyseaktivität kann nicht generell beschrieben werden. So wurde für die Tween<sup>R</sup>-Produkte mit zunehmender Fettsäurekettenlänge eine Abnahme der Hämolyseaktivität festgestellt. Diese Feststellung haben auch Terehata und Mitarbeiter [204] sowie Kato und Mitarbeiter [200] publiziert. Für die Zuckester haben Mima und Mitarbeiter [148] [203] eine Zunahme der Hämolyseaktivität mit zunehmender Fettsäurekettenlänge beschrieben. Dieser Effekt konnte hier mit den untersuchten Zuckestern bestätigt werden. Putnam [205] berichtete, dass die hämolytische Aktivität von Alkylsulfaten mit zunehmender Kettenlänge zunimmt. Ross und Silverstein [206] haben den Einfluss der Fettsäurekettenlänge in ionischen Tensiden untersucht und dabei festgestellt, dass die Hämolyseaktivität der quaternären Ammoniumbasen mit zunehmender Kettenlänge zunimmt. In keiner der hier untersuchten Tensidklassen konnte ein lineares Verhältnis zwischen der Fettsäurekettenlänge und dem Ausmass der Hämolyse festgestellt werden.

## 11. Hämolyseverminderung

### 11.1. Mechanismus der Hämolyse

Eine Zerstörung der Zelle, bei der Hämoglobin in das Plasma übertritt, wird als Hämolyse bezeichnet. Neben der osmotischen Hämolyse können auch andere Mechanismen zur Zerstörung der Zellmembran und damit zur Hämolyse führen. Chemische Hämolyse kann durch organische Lösungsmittel wie z.B. Chloroform oder Ether oder durch Seifen sowie andere amphiphile Stoffe, die Bestandteile aus der Membran herauslösen können, verursacht werden. Tierische oder bakterielle Gifte wie Schlangengifte oder Gifte der hämolysierenden Streptokokken bewirken toxische Hämolyse. Serologische, z.B. bei Transfusionszwischenfällen, mechanische oder thermische Belastungen können ebenfalls zur Hämolyse führen [207]. Im Zusammenhang mit den Tensiden kommt der chemischen Hämolyse besondere Bedeutung zu. Verschiedene Autoren [22] [198] [205] [206] [208] [209] vertraten die Ansicht, dass die Tenside in Wechselwirkung mit den Bestandteilen der Erythrozytenmembran treten und durch ihre solubilisierende Eigenschaft die Membranbestandteile herauszulösen vermögen, was zur Lyse der Zelle führt. Die Erythrozytenmembran setzt sich aus 35 - 45 % Lipid, davon ein hoher Anteil an Cholesterin [22], 40 - 50 % Protein und 7 - 15 % Kohlenhydraten [210] zusammen.

Die hämolytische Wirkung eines Tensids ist an das Vorhandensein von Mizellen oder Prämizellen gebunden [211]. Tensidmonomere verursachen keine Hämolyse. Dies konnte mit eigenen Hämolysetests mit Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> und mit polyethoxiliertem Cholesterin, deren Hämolysaktivität im Bereich ihrer CMC untersucht wurde, nachgewiesen werden. Die CMC von L-1695<sup>R</sup> wurde sowohl mit der Messung der Oberflächenspannung nach DU NOUY (Abschn. E. 7.2.) als auch mit Lichtstreumessung (Abschn. E. 16.2.1.) übereinstimmend im Bereich von 0,01 % liegend bestimmt. Abschn. H. 1.1.3. zeigt bereits im Bereich der CMC von L-1695<sup>R</sup> und in der Konzentration wenig unterhalb der CMC eine geringe Hämolysaktivität. Diese wurde auf das Vorhandensein von Prämizellen (Abschn. E. 7.4.) zurückgeführt. Oberhalb der CMC nahm die Hämolysaktivität deutlich zu. Die CMC von polyethoxiliertem Cholesterin wurde mit Hilfe der Methode der Bestimmung der Verschiebung des Absorptionsmaximums von Rhodamin 6G zu 0,014 % bestimmt [212]. Abschn. H. 1.1.3. zeigt für diese Substanz nur im Bereich der CMC und in Konzentrationen oberhalb der CMC Hämolysaktivität. Als Modelltensid wurde das Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> mit der Absicht untersucht, seine Hämolysaktivität in Konzentrationen oberhalb der CMC vermindern zu können. Mit Hilfe der Messung der Gefrierpunktserniedrigung von Lösungen von L-1695<sup>R</sup> unterschiedlicher Konzentrationen in 0,9 %iger NaCl-Lösung wurde

Isokryoskopie festgestellt. Daraus könnte geschlossen werden, dass Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> keine osmotische Hämolyse verursacht. Die Erythrozyten-schädigung in L-1695<sup>R</sup>-Lösungen ist auf chemische Hämolyse zurückzuführen.

### 11.2. Verminderung der Hämolyse von Saccharosemonolaurat durch Proteinzu-satz

Mit Hämolysetests hat Ponder [198] gezeigt, dass die Hämolyseaktivität eines ionischen Tensids vermindert werden konnte, wenn der Tensidlösung Plasma oder dessen Bestandteile wie Serumalbumin, Serumglobulin, Lecithin oder Cholesterin zugegeben wurde. Es wurde geprüft, ob derselbe Effekt auch bei Saccharosemono-laurat L-1695<sup>R</sup> erreicht werden kann. Als wasserlösliche Proteine wurden Gelita-Sol<sup>R</sup> (= kaltwasserlösliche, hydrolysierte Gelatine der Firma Stoess + Co. GmbH, D-Eberbach) sowie Albumin SRK (= 20 % Serumalbumin des Blutspende-dienstes SRK, CH-Bern) verwendet. Sowohl von Gelita-Sol<sup>R</sup> als auch von Albumin SRK wurden je eine 10 %ige Lösung in 0,9 %iger NaCl-Lösung erstellt und diese Proteinlösungen als Lösungsmittel für verschiedene konzentrierte L-1695<sup>R</sup>-Lösungen verwendet. Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> ohne Proteinzu-satz ergab eine Hämolyseaktivität von 34 D (Tabelle 19), mit dem Zusatz von Gelita-Sol<sup>R</sup> verminderte sich die Hämolyseaktivität auf 25 D (Abschn. H. 1.1.2.) und mit dem Zusatz von Albumin auf 21 D. Nachdem die Hämolyseaktivität des Zuckeresters durch Proteinzugabe vermindert werden konnte wurde untersucht, ob eine Solubili-satlösung des Polypeptides Ciclosporin in L-1695<sup>R</sup> ebenfalls eine Hämolyse-verminderung zeigt. Es wurde eine 10 %ige Lösung von L-1695<sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung erstellt und darin 10 mg Ciclosporin pro ml Tensidlösung gelöst. Diese Solubilisatlösung wurde mit 0,9 %iger NaCl-Lösung weiter verdünnt. Der Hämolysetest zeigte in diesen Probelösungen keine Verminderung der Hämolyse-aktivität.

### 11.3. Verminderung der Hämolyse von Saccharosemonolaurat durch Mischmizellen

Steffen [15] [30] berichtete, die Hämolyse von aggressiven Assoziationskolloiden könnte durch die Bildung von Mischmizellen mit Lecithin verringert werden. Es gelang ihm so, die Hämolyseaktivität von Gallensäurederivaten zu vermindern. Nach dem im Abschn. E. 12.2.2. beschriebenen Verfahren b) wurden klare Mischmizelllösungen hergestellt, die L-1695<sup>R</sup> und Lecithin in einem Verhältnis von 1:0,3 enthielten. L-1695<sup>R</sup> konnte zusammen mit Lecithin in einem höheren Verhältnis als 1:0,3 in Wasser nicht klar gelöst werden. Auch mit Caprylsäuremonoglycerid gelang zusammen mit L-1695<sup>R</sup> eine klare Mischmizell-lösung in nur diesem Verhältnis. Verschiedene konzentrierte Mischmizelllösungen ergaben keine Hämolyseverminderung für L-1695<sup>R</sup>. Ein Vergleich der Hämolyseaktivität von L-1695<sup>R</sup> (Monoesteranteil ~ 80 %) (Abschn. H. 1.1.1., XIX) mit der von reinem Saccharosemonolaurat (Monoesteranteil > 95 %) (Abschn. H. 1.1.1.,

XIXa) ergab keinen Unterschied im Ausmass der Hämolyse. Die Di-, Tri- und Polyesteranteile von L-1695<sup>R</sup> vermögen in den Mischmizellen die Hämolyseaktivität nicht zu beeinflussen.

#### **11.4. Diskussion**

Bei der Suche nach einer Möglichkeit, die Hämolyseaktivität von Sacchar se-monolaurat L-1695<sup>R</sup> zu vermindern, wurde die Beeinflussung durch Protein Zusatz festgestellt. Der Hämolysemechanismus von L-1695<sup>R</sup> lässt sich so erklären, dass dieses Tensid einen guten Solubilisator für die Strukturproteine in der Erythrozytenmembran darstellt. Die Mizellen als dynamische Gebilde adsorbieren an den Erythrozyten und solubilisieren dort die Membranproteine. Diese Phase der Hämolyse beschrieben Jung und Mitarbeiter [209] als Umordnung der Mizelle. Die Hämolyseverminderung besteht nun darin, dass die solubilisierten Membranproteine laufend durch die Proteinmoleküle in der Tensidlösung ersetzt werden. Dank dieser Gleichgewichtsreaktion kann sich kein Leck in der Erythrozytenmembran bilden und es kommt nicht zur Lyse der Zelle. Bei diesem Hämolyseverminderungsmechanismus wird Ciclosporin offenbar nicht an Stelle der solubilisierten Strukturproteine eingebaut, weshalb eine Ciclosporinsolubilisatlösung mit L-1695<sup>R</sup> keine Hämolyseverminderung zeigte. Dass die Hämolyseaktivität von L-1695<sup>R</sup> durch Mischmizellen mit Lecithin und Caprylsäuremonoglycerid nicht vermindert werden konnte kann damit erklärt werden, dass L-1695<sup>R</sup> bevorzugt Proteine aus der Membran solubilisiert, Gallensäurederivate hingegen bevorzugt Phospholipide. Mit diesen Versuchen konnte die Ansicht verschiedener Autoren, wonach der Hämolysemechanismus auf der Solubilisation von Erythrozytenmembranbestandteilen beruht, nicht widerlegt werden.

#### **12. Solubilisierkapazität von amphiphilen Assoziationskolloiden**

Die Fähigkeit eines Tensids, einen Stoff zu solubilisieren, kann mit seiner Solubilisierkapazität bei einer bestimmten Konzentration ausgedrückt werden. Sie entspricht einer Sättigungsgrenzkonzentration [213]. In der englischen Literatur wird diese Konzentration als MAC (Maximum Additive Concentration) bezeichnet [22] [34] [114]. In unseren Versuchen wurde die Solubilisierkapazität in Milligramm [mg] Solubilisat pro Milliliter [ml] Tensidlösung bestimmter Konzentration bei Raumtemperatur (+ 22°C ± 1°C) ausgedrückt.

## 12.1. Bestimmung der Solubilisierkapazität

### 12.1.1. Bestimmungsmethoden

Grundsätzlich sind die Methoden zur Bestimmung der Solubilisierkapazität dieselben wie die zur Bestimmung der Löslichkeit eines Stoffes in einem gegebenen Lösungsmittel. Hier kommt die Erschwerung dazu, dass die Bestimmungen in kolloidalen Lösungen durchgeführt werden müssen. In der Literatur findet man verschiedene Bestimmungsmethoden. Die gebräuchlichsten sollen im folgenden kurz beschrieben werden.

Verschiedene Autoren gaben zu einer Tensidlösung einen Überschuss an Solubilität und trennten den nicht solubilisierten Anteil mittels Zentrifugieren oder Filtration von der klaren Solubilisatlösung ab. Die Menge an solubilisierter Substanz wurde durch gravimetrische Bestimmung des abgetrennten Überschusses [214], durch konduktometrische Messung [182] oder durch spektrophotometrische Bestimmung in der Solubilisatlösung [23] [107] [115] [150] [182] [215] [216] ermittelt. Eine gängige Methode ist die visuelle Bestimmung des Endpunktes der Solubilisation bei schubweiser Zugabe des Solubilisates zur Tensidlösung [22] [23] [217]. Dieses Verfahren wurde seiner Einfachheit und Zuverlässigkeit wegen auch in unseren Versuchen verwendet. In der Tabelle 30 sind diese Bestimmungsmethoden zusammengestellt.

**Tabelle 30:**

**Übersicht über in der Literatur beschriebene gängige Methoden zur Bestimmung der Solubilisierkapazität.**

Probelösung:	Tensidlösung	
Zusatz:	Solubilisat	
Zugabeart:	im Überschuss	schubweise
Behandlung:	Filtration Dialyse Zentrifugation	
Quantitative Bestimmung:	UV  HPLC + UV  Konduktometrie  Gravimetrie	visuell

#### **12.1.2. Eigene Bestimmungsmethode**

Zur Bestimmung der Solubilisierkapazität einer wässrigen Tensidlösung bestimmter Konzentration für eine Modellsolubilisatsubstanz wurde wie folgt vorgegangen:

Durch Zugabe von Guajazulen zu einer beliebig konzentrierten Lösung des zu untersuchenden Tensids wurde festgestellt, ob Solubilisation eintrat. Sodann wurden eine 5 und 10 %ige Lösung des Tensids hergestellt und ein Überschuss an Solubilisat, bei dem es sich um einen lipophilen Feststoff handelte, zugegeben. Der Überschuss wurde zentrifugiert, getrocknet und gewogen. Die berechnete solubilisierte Menge gab einen ungefähren Anhaltspunkt der Solubilisierkapazität der Tensidlösung bei diesen beiden Konzentrationen.

Zu je 10 ml wässriger Tensidlösung steigender Konzentration zwischen 1 und 20 % wurden schubweise je 10 mg Solubilisat unter Rühren am Magnetrührer zugegeben, die nächste Zugabe jeweils erst, sobald das Solubilisat vollständig gelöst vorlag. Die Solubilisierkapazität wurde als jene Konzentration Solubilisat in [mg/ml] Tensidlösung angegeben, die noch klar solubilisiert wurde und als Solubilisatlösung bei Raumtemperatur mindestens 3 Stunden klar blieb. Die Genauigkeit dieser Bestimmungsmethode der Solubilisierkapazität bei Raumtemperatur betrug  $\pm 1 \text{ mg/ml}$ .

### **12.1.3. Diskussion**

Die hier verwendete Bestimmungsmethode beruht auf dem Prinzip der steigenden Solubilisatzugabe zu einer Tensidlösung bekannter Konzentration. Mit dieser Methode ist ein allfälliger Einfluss des nicht mehr solubilisierten Übersättigungsanteiles auf die Solubilisierkapazität der Mizellösung ausgeschlossen. Die visuelle Endpunktbestimmung zeichnet sich durch ihre Einfachheit und Eindeutigkeit aus. Bei konstanten Temperaturen ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) ergibt diese Methode gut reproduzierbare Werte. Als Modellsolubilisat wurde mehrheitlich Ciclosporin verwendet. Die visuelle Bestimmung des Sättigungspunktes wurde der spektralphotometrischen Messmethode vorgezogen. In Mizellösungen können Verschiebungen des Absorptionsspektrums des Solubilisates in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration eintreten. Ullmann und Mitarbeiter [107] haben für das wässrige System Salicylsäurephenylester in Tween<sup>R</sup> 80 sowohl eine Verschiebung der maximalen Wellenlänge als auch der Extinktionswerte bei gleichbleibender Solubilitatkonzentration festgestellt.

## **12.2. Solubilisierkapazität von Mischmizellen**

### **12.2.1. Mischmizellen**

In einer Lösung von zwei oder mehr amphiphilen Stoffen bilden sich nicht artreine Mizellen, die nur aus einem amphiphilen Stoff bestehen. Es entstehen spontan Mischmizellen. Solche Mizellen bilden sich, wenn ein oder mehrere Tenside miteinander oder mit einem Cosolubilisator (Abschn. D. 3.8.2.) [112] in Wasser gemischt werden. Mit Hilfe von Mischmizellen kann ein in Wasser schwerlösliches Tensid zusammen mit einem wasserlöslichen amphiphilen Stoff, der als Solubilisator wirkt, in Lösung gebracht werden. In einem solchen Fall können die beiden amphiphilen Stoffe nicht in beliebigem Verhältnis in Wasser klar gelöst werden. Über die Mischung eines anionischen mit einem nichtionischen Tensid berichteten Elworthy und Macfarlane [46]. In ihrem System bestand eine lineare Beziehung zwischen dem Molekulargewicht der Mischmizellen und dem Mizellmolekulargewicht der einzelnen Tenside. Grosse Bedeutung als intravenös applizierbare Form haben Mischmizellen aus Gallensäurederivaten und Lecithin erlangt [15] [30]. Schurtenberger und Mitarbeiter [31] untersuchten mit Lichtstreumessung Mischmizellen aus Glykocholsäure und Phosphatidylcholin und stellten fest, dass der Radius dieser Vesikel zwischen 120 und 550 Å lag. Durch Verdünnung und Dialyse gelang es ihnen, Glykocholat aus den Mischmizellen zu entfernen und so unilamellare, monodisperse Vesikel zu erhalten, die sich nur unwesentlich im Radius von den Mischmizellen unterschieden. Bloois und Mitarbeiter [13] verglichen die Solubilisierkapazität von Liposomen und einer O/W Emulsion für einen in Wasser schwerlöslichen Wirkstoff mit der von Mischmizellen aus Lecithin und Taurocholsäure. Sie fanden für die Liposomen

sowohl die beste Stabilität als auch die höchste Solubilisierkapazität im Vergleich zu den beiden anderen Formulierungen.

### **12.2.2. Herstellung der Mischmizellen**

Zur Herstellung von Mischmizellen aus Saccharosemonolaurat und Lecithin boten sich zwei Verfahren an:

- a) Herstellen einer wässrigen Lösung von Saccharosemonolaurat, in der das Lecithin gelöst wird.
- b) Saccharosemonolaurat und Lecithin in 94 %igem Ethanol lösen, das Lösungsmittel abdampfen und den Rückstand in Wasser lösen.

Das Verfahren b) zeigte den Vorteil, dass eine klare Mischmizelllösung in sehr viel kürzerer Zeit herstellbar war. Nach dem Verfahren a) wurde die wässrige Mischung erst nach etwa 2 Tagen klar. Zur Herstellung der Mischmizellen aus Saccharosemonolaurat und Lecithin wurde das Verfahren b) verwendet.

Mit Saccharosemonolaurat L-1540<sup>R</sup> (Monoesteranteil ca. 70 %) und Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> (Monoesteranteil ca. 80 %) wurden zusammen mit dem gereinigten Phosphatidylcholin Epikuron<sup>R</sup> 200 durch Auflösen in 0,9 %iger NaCl-Lösung klare Mischmizelllösungen hergestellt. Dabei gelang es, mit L-1540<sup>R</sup> einen Anteil an Epikuron<sup>R</sup> 200 im Verhältnis von 1:0,1 einzuarbeiten, mit L-1695<sup>R</sup> wurde ein Verhältnis von 1:0,3 erreicht. Die Mischmizelllösungen konnten mit 0,9 %iger NaCl-Lösung in jedem Verhältnis verdünnt werden.

Eine Mischmizelllösung kann auch als Lösung eines einzigen Tensids vorliegen, das z.B. nebst einem grösseren Monoesteranteil auch unbestimmte Anteile an in Wasser schwerlöslichen Di-, Tri- und Polyester enthalt. So kann man sich vorstellen, dass die Mizellen einer Lösung von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> zusammengesetzt sind aus Mono-, Di-, Tri- und Polyestermolekülen. Auch eine wässrige Lösung von Cremophor<sup>R</sup> EL kann als Mischmizelllösung bezeichnet werden, da Cremophor<sup>R</sup> EL ein undefiniertes Gemisch aus Ricinolsäureglycerinpolyglyk 1-estern, Ricinolsäurepolyglykolestern und Glycerinethoxilat darstellt [106].

### **12.2.3. Solubilisierkapazität von Mischmizellen in Saccharosemonolauratlösungen**

In einer klaren Mischmizelllösung aus L-1695<sup>R</sup> und Epikuron<sup>R</sup> 200 im Verhältnis 1:0,1, in der der Anteil an L-1695<sup>R</sup> in der Lösung 20 % betrug, konnten 3 mg Guajazulen pro ml solubilisiert werden, wohingegen eine 20 %ige Lösung von L-1695<sup>R</sup> eine Solubilisierkapazität von 5 mg/ml für Guajazulen aufwies. Beim Vergleich der Solubilisierkapazität für Ciclosporin in Lösungen von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> mit einem Monoesteranteil von ca. 80 % und reinem Saccharosemonolaurat mit einem Monoesteranteil von über 95 % konnte kein Unterschied gemessen werden.

#### 12.2.4. Diskussion

In den untersuchten Mischmizellsystemen aus einem wasserlöslichen Tensid und mehreren schwerlöslichen amphiphilen Stoffen konnte für die Reinsubstanzen Guajazulen und Ciclosporin keine erhöhte Solubilisierkapazität festgestellt werden. Dies steht im Gegensatz zur Feststellung von Hüttenrauch [112] und Nowak [113], die in wässrigen Lösungen von zwei oder mehr Tensiden oder von undefinierten Tensidgemischen erhöhte Solubilisierkapazitäten beschrieben. Dies kann auf Mischmizellen aus wasserlöslichen amphiphilen Stoffen und auf die Art der von diesen Autoren verwendeten Solubilisate zurückgeführt werden. Die gegenüber Solutol<sup>R</sup> HS 15 wenig höhere Solubilisierkapazität von Cremophor<sup>R</sup> EL für Ciclosporin wurde nicht auf die Mischmizellen in der Lösung zurückgeführt, sondern auf die längere EO-Kette von Cremophor<sup>R</sup> EL (Abschn. E. 12.4.5.). In einer klaren Tensidgemischlösung, die durch Mischen von wasserlöslichen und in Wasser schwerlöslichen amphiphilen Stoffen hergestellt wurde, wird die Solubilisierkapazität des wasserlöslichen Tensids zu einem gewissen Anteil für die Solubilisation der schwerlöslichen amphiphilen Stoffe aufgebraucht. Die Kapazität der Mischmizellen zur Solubilisation eines lipophilen Wirkstoffes kann so vermindert sein. Da Mischmizellen aus Saccharosemonolaurat und Lecithin keine Hämolyseverminderung und nur geringe Solubilisierkapazität für Ciclosporin zeigten, wurde diese Form nicht weiter untersucht.

#### 12.3. Solubilisierkapazität im Verhältnis zur Tensidkonzentration

Für eine Reihe von Solubilisatoren aus den Tensidklassen der polyethoxilierten Fettsäureester, Zuckerester, quaternären Ammoniumbasen (Quats) und Seifen wurden für Ciclosporin die Solubilisierkapazitäten bei mehreren Tensidkonzentrationen nach der in Abschn. E. 12.1.2. beschriebenen Methode bestimmt. Für jedes Tensid wurde die Solubilisierkapazität zur betreffenden Solubilisatorkonzentration in einer Tabelle zusammengestellt (Abschn. H. 1.2.) und geprüft, ob ein lineares Verhältnis zwischen der Konzentration der Tensidlösung und der Solubilisierkapazität bestand. Die Konzentrationen der Tensidlösungen wurden in Prozenten [%] (G/G) angegeben, womit dem Umstand Rechnung getragen wurde, dass die meisten untersuchten Tenside keine definierten Reinsubstanzen waren (Abschn. E. 5.3.).

Um die Solubilisierkapazitäten miteinander vergleichen zu können, wurde in den Tabellen 31-35 die Solubilisierkapazität jeden Solubilisators für die 10 Zige Lösung zusammengestellt. Mit der zusätzlichen Angabe, ob und in welchem Konzentrationsbereich ein lineares Verhältnis bestand, konnte die Solubilisierfähigkeit eines Tensids für Ciclosporin hinreichend charakterisiert werden.

12.3.1. Bestimmungen für verschiedene Tenside**Tabelle 31:****Solubilisierkapazitäten verschiedener polyethoxilierter Fettsäureester.**

Polyethoxilierte Fettsäureester		Markenname	Solubilisierkapazität der 10 %igen Lösung für Ciclosporin	Linearität des Verhältnisses Tensidkonzentration zur Solubilisierkapazität
Stearinsäure	40 EO	Myrij 52	8 mg/ml	linear nur bis ca. 10 %
12-Hydroxi-stearinsäure	15 EO	Solutol HS 15	8 mg/ml	linear nur bis ca. 20 %
12-Hydroxi-stearinsäure	18 EO		6 mg/ml	linear bis mindestens 15 %
12-Hydroxi-stearinsäure	40 EO	Cremophor RH 40	10 mg/ml	linear bis mindestens 10 %
Ölsäure	20 EO		4 mg/ml	linear bis mindestens 15 %
Ölsäure	41 EO		5 mg/ml	linear bis mindestens 15 %
Ricinolsäure	20 EO		6 mg/ml	linear nur bis ca. 10 %
Ricinolsäure	40 EO	Cremophor EL	8,5 mg/ml	linear nur bis ca. 20 %

**Tabelle 32:****Solubilisierkapazitäten von Saccharosemonofettsäureestern.**

Saccharosemono-ester	Markenname	Solubilisier-kapazität der 10 %igen Lösung für Ciclosporin	Linearität des Verhältnisses Tensidkonzentration zur Solubilisierkapazität
Caprinsäure		12 mg/ml	linear bis mind. 15 %
Laurinsäure	L-1695	16 mg/ml	linear bis mind. 20 %
Myristinsäure	M-1695	13 mg/ml	nicht linear ab CMC
Stearinsäure		26,6 mg/ml *)	linear bis mind. 10 %
Ölsäure		25 mg/ml	linear bis mind. 10 %

\*) bestimmt mittels HPLC in der nach Zentrifugieren klaren Solubilisat-lösung.

**Tabelle 33:****Solubilisierkapazitäten von Raffinosemonofettsäureestern.**

Raffinosemono-ester	Solubilisier-kapazität der 10 %igen Lösung für Ciclosporin	Linearität des Verhältnisses Tensidkonzentration zur Solubilisierkapazität
Laurinsäure	13,5 mg/ml	linear bis mind. 10 %
Ölsäure	20 mg/ml	linear bis mind. 15 %

**Tabelle 34:**  
Solubilisierkapazitäten von Seifen.

Seifen	Solubilisier- kapazität der 10 %igen Lösung für Ciclosporin	Linearität des Ver- hältnisses Tensid- konzentration zur Solubilisierkapazität
Natriumoleat	69 mg/ml	linear bis mind. 15 %
Natriumricinoleat	95 mg/ml	linear nur bis ca. 6 %
Kaliumricinoleat	85 mg/ml	linear nur bis ca. 6 %
Natriumlaurylsulfat	95 mg/ml	nicht linear ab CMC

**Tabelle 35:**  
Solubilisierkapazitäten von quaternären Ammoniumbasen.

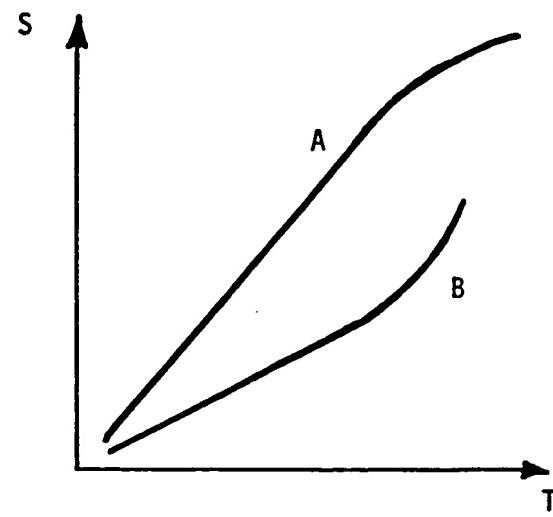
Quats	Solubilisier- kapazität der 10 %igen Lösung für Ciclosporin	Linearität des Verhältnisses Tensidkonzentration zur Solubilisierkapazität
Desogen <sup>R</sup>	16 mg/ml	linear im Bereich 1 bis mind. 10 %
Benzalkoniumchlorid	26 mg/ml	nicht linear ab CMC

**Tabelle 36:**  
Von den folgenden Tensiden wurde die Solubilisierkapazität für Ciclosporin nur in einer Tensidkonzentration bestimmt:

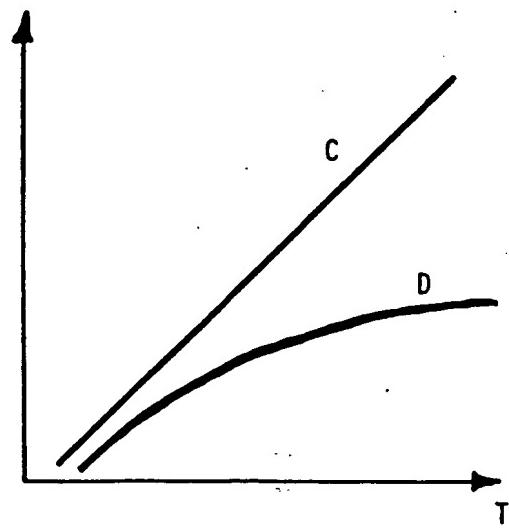
Tensid	Konzentration	Solubilisierkapazität
Mono-Polyglycerinester der Caprylsäure	10 %	1 mg/ml
Decaglycerinmonolaurat	10 %	1 mg/ml
O-Lauroyl-DL-Carnitin	5 %	12 mg/ml
O-Myristoyl-DL-Carnitin	2 %	8 mg/ml

### 12.3.2. Interpretation der Resultate

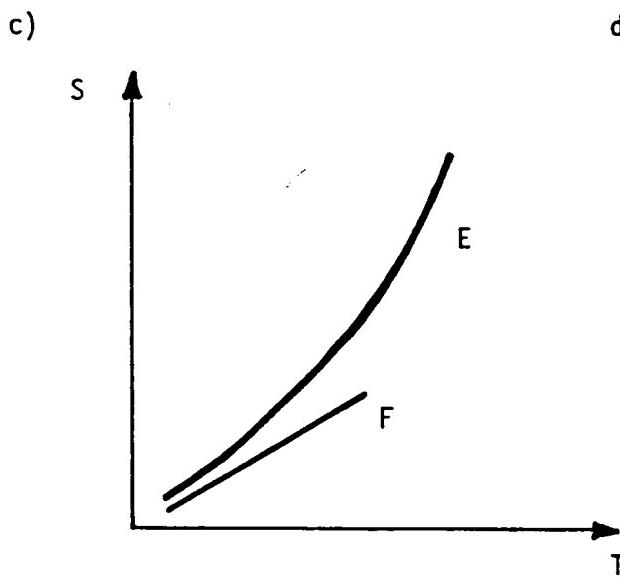
Bei allen untersuchten polyethoxilierten Fettsäureestern (Tabelle 31) wurde zwischen CMC und 10 % eine lineare Beziehung zur Solubilisierkapazität festgestellt. In höheren Konzentrationen erreichte die Löslichkeit für Ciclosporin eine Sättigung. Bei Myrij<sup>R</sup> 52 konnte ab 10 % Tensid bei zunehmender Viskosität überproportional mehr Ciclosporin solubilisiert werden. Bei den Zuckerestern war bis mindestens 10 % Tensid ebenfalls ein direkt proportionales Verhältnis festzustellen (Abbildung 9). Eine Ausnahme bildete Saccharosemonomyristat M-1695<sup>R</sup>, bei dem sich ab CMC eine deutliche Steigerung der Viskosität (Abschn. E. 12.4.6.) und eine nichtlineare Abnahme der Solubilisierkapazität einstellten (Abbildung 22). Die Seifen erwiesen sich für Ciclosporin als sehr gute Solubilisatoren. Die Natrium- und Kaliumsalze der Ricinolsäure zeigten bis ca. 6 % Tensid ein lineares Verhalten. In höher konzentrierten Lösungen nahm die Solubilisierkapazität überproportional zu. Dabei war kein Viskositätsanstieg bemerkbar. In Solubilisatlösungen mit Natriumlaurylsulfat nahm die Solubilisierkapazität umgekehrt proportional ab. In Natriumoleatlösungen konnte Ciclosporin direkt proportional bis zu 15 % Tensid solubilisiert werden. Während bei Desogen<sup>R</sup> das Verhältnis direkt proportional war, konnte in Benzalkoniumchloridlösungen Ciclosporin überproportional solubilisiert werden. In der Abbildung 18 ist das Verhalten der Solubilisierkapazität für Ciclosporin zur Konzentration der untersuchten Tensidklassen schematisch dargestellt.



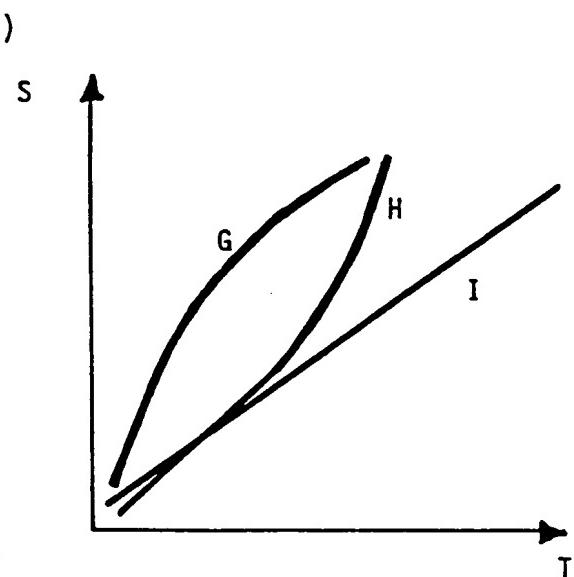
a) Polyethoxilierte Fettsäuren  
b) Myrj<sup>R</sup> 52



c) Zuckerester  
d) M-1695<sup>R</sup>



e) Benzalkoniumchlorid  
f) Desogen<sup>R</sup>



g) Natriumlaurylsulfat  
h) Ricinolsäuresalze  
i) Natriumoleat

Abbildung 18:

Schematische Darstellung des Verhältnisses der Solubilisierkapazität S für Ciclosporin zur Tensidkonzentration T bei a) polyethoxilierten Fettsäuren, b) Zuckerestern, c) Quats, d) Seifen.

Ein System, in dem sich das Solubilisat direkt der umgekehrt proportional zur Tensidkonzentration lösen lässt, kann mit Wasser in beliebigem Verhältnis verdünnt werden, ohne dass das Solubilisat ausfällt. Dagegen fiel aus einer Solubilisatlösung mit überproportionalem Verhalten beim Verdünnen mit Wasser Ciclosporin aus.

### **12.3.3. Diskussion**

Die Solubilisierkapazität einer Tensidlösung bestimmter Konzentration ist in Abhängigkeit von der Temperatur für ein bestimmtes Solubilisat spezifisch. Die Solubilisierkapazität kann deshalb als eine Stoffkonstante für ein Solubilisatssystem bezeichnet werden. Das Verhältnis der Solubilisierkapazität zur Konzentration von EO-Tensiden wurde von mehreren Autoren untersucht. Für verschiedene Solubilisate haben sie in niedrigen Konzentrationsbereichen direkt proportionales Verhalten festgestellt [75] [86] [179] [216]. Yousef und Mitarbeiter [115] untersuchten die Solubilisierkapazität in wässrigen Lösungen von Tween<sup>R</sup> 20 und PEG 400 bis 100 % Tensid für Chloramphenicol als Solubilisat. In beiden Lösungen war das Verhältnis bis ca. 40 % Tensid linear, nahm dann überproportional zu, um nach einem Sättigungsgrad bei etwa 80 % Tensid wieder abzunehmen. Für Lidocain als Solubilisat publizierte Müller-Goymann [77] einen ähnlichen Effekt. Ellö [213] untersuchte mittels Wassertitration die Solubilisierkapazitäten von Tween<sup>R</sup> 20, 40, 60 und 80 für verschiedene Öle. Er stellte fest, dass das Solubilisierverhalten für jedes Solubilisator/Solubilisat-System spezifisch war. Linearität im Verhalten der Solubilisierkapazität zur Tensidkonzentration stellte er nur vereinzelt fest. Von einem linearen Verhältnis der Solubilisierkapazität für Orange OT zur Tensidkonzentration verschiedener Saccharosemonofettsäureester berichteten Gerhardt und Liebscher [52]. Sowohl ionische wie auch nichtionische Tenside können bei niedrigen Solubilisatorkonzentrationen lineares Verhältnis zeigen oder von diesem Verhalten bereits ab CMC abweichen. Die Kenntnisse dieses Verhaltens sind unabdingbar, wo konzentrierte Solubilisatlösungen mit wässrigem Medium verdünnt werden müssen.

## **12.4. Einflussfaktoren auf die Solubilisierkapazität**

### **12.4.1. Temperatur**

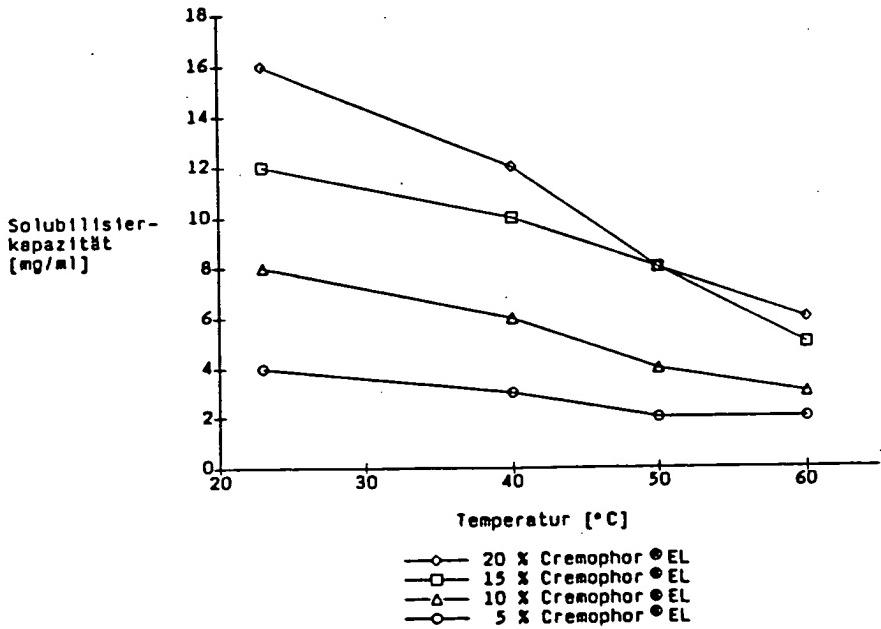
Der Einfluss der Temperaturerhöhung auf die Solubilisierkapazität wurde für die beiden Solubilisatoren Cremophor<sup>R</sup> EL und Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> bei verschiedenen Konzentrationen für Ciclosporin als Solubilisat bestimmt. Nach der von Scheller [130] beschriebenen Methode wurde der Trübungspunkt (Abschn. E. 6.1.) einer 5 %igen Lösung von Cremophor<sup>R</sup> EL in Wasser zu 62°C ± 1°C bestimmt. L-1695<sup>R</sup> zeigte selbst in hochkonzentrierten Lösungen und nach Elektro-

lytzusatz keinen Trübungspunkt. Das Ausmass der Veränderungen der Sierkapazität bei den Temperaturen 23°, 40°, 50° und 60°C ist für Cremophor<sup>R</sup> EL in der Tabelle 37 zusammengestellt und in Abbildung 19 dargestellt, für L-1695<sup>R</sup> in Tabelle 38 und in Abbildung 20.

**Tabelle 37:**

Solubilisierkapazität von Cremophor<sup>R</sup> EL für Ciclosporin bei verschiedenen Temperaturen.

Konzentration Cremophor <sup>R</sup> EL	Solubilisierkapazität [mg/ml]			
	23°C	40°C	50°C	60°C
5 %	4	3	2	2
10 %	8	6	4	3
15 %	12	10	8	6
20 %	16	12	8	5



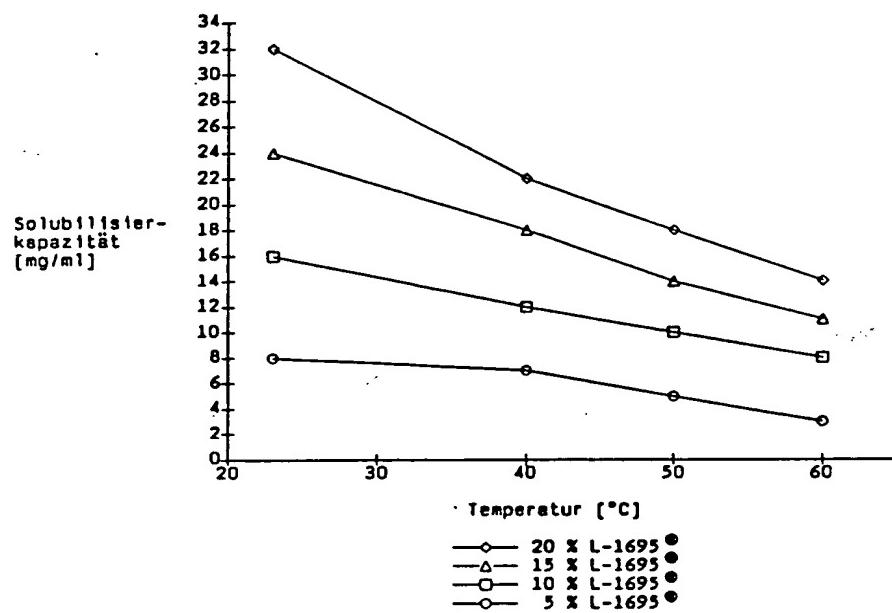
**Abbildung 19:**

Solubilisierkapazität von Cremophor<sup>R</sup> EL für Ciclosporin bei verschiedenen Temperaturen. Darstellung der Werte aus Tabelle 37.

**Tabelle 38:**

Solubilisierkapazität von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> für Ciclosporin bei verschiedenen Temperaturen.

Konzentration L-1695 <sup>R</sup>	Solubilisierkapazität [mg/ml]			
	23°C	40°C	50°C	60°C
5 %	8	7	5	3
10 %	16	12	10	8
15 %	24	18	14	11
20 %	32	22	18	14

**Abbildung 20:**

Solubilisierkapazität von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> für Ciclosporin bei verschiedenen Temperaturen. Darstellung der Werte aus Tabelle 38.

Bei beiden Solubilisatoren verhielt sich die Solubilisierkapazität zur Temperaturerhöhung umgekehrt proportional. Im Gegensatz dazu berichteten Seiller und Mitarbeiter [86], die Mizellgrösse und somit auch die Solubilisierkapazität nahmen im allgemeinen mit der Temperatur zu. Dabei sei zu beachten, dass

bei höheren Temperaturen der Trübungspunkt auftritt. Da die Solubilisierkapazitäten von Cremophor<sup>R</sup> EL bei Temperaturen unterhalb des Trübungspunktes bestimmt wurden, konnte dieser Einfluss ausgeschlossen werden. Das bei Raumtemperatur umgekehrt proportionale Verhalten der Solubilisierkapazität von Cremophor<sup>R</sup> EL ab 20 % Tensid (Abschn. E. 12.3.2.) trat bei Erwärmen bereits bei niedrigeren Konzentrationen ein.

Bei Raumtemperatur klare Solubilisatlösungen von Ciclosporin in L-1695<sup>R</sup> und Cremophor<sup>R</sup> EL trübten sich beim Erwärmen. Während die heißen trüben Solubilisatlösungen abkühlten, verschwand die Trübung zusehends, bis schliesslich eine Solubilisatlösung mit Cremophor<sup>R</sup> EL bei Raumtemperatur wieder vollends klar war. Solubilisatlösungen mit L-1695<sup>R</sup> zeigten nach Abkühlung bis + 4°C eine leichte Trübung durch nicht mehr vollständig solubilisiertes Ciclosporin. Auf dieses Phänomen wird im Kapitel E. 18. eingegangen. Da solubilisierte Systeme thermodynamisch stabil sind, ist eine temperaturbedingte Änderung in der Solubilisierkapazität reversibel [24].

#### 12.4.2. Herstellungsart

Mit Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> als nichtionischem und O-Lauroyl-DL-Carnitin als ionischem Tensid wurden Solubilisatlösungen mit Ciclosporin nach drei Herstellungsarten (Abschn. D. 3.11.) erstellt. Methode a): Ciclosporin wurde bis zur Sättigungsgrenze in der klaren Tensidlösung solubilisiert. Methode b): Tensid und Ciclosporin wurden im Verhältnis der Solubilisierkapazität der 10 %igen Tensidlösung in Ethanol gelöst, das Lösungsmittel abgedampft und der Rückstand in Wasser gelöst.

Bei beiden untersuchten Tensiden gelang es nicht, nach der Methode b) mehr Ciclosporin als nach Methode a) zu solubilisieren. Auch durch Verreiben des Tensids mit Ciclosporin und nachfolgender Zugabe von Wasser, der Herstellungsmethode c), liess sich die Solubilisierkapazität nicht steigern. Daraus wurde geschlossen, dass durch die Herstellungsart die Solubilisierkapazität nicht beeinflusst werden kann, wohl aber die Solubilisiergeschwindigkeit. Nach der Methode b) liess sich Ciclosporin bei beiden Tensiden in kürzerer Zeit als nach der Methode c) solubilisieren, weil der Wirkstoff bereits vor der Wasserzugabe in engem Kontakt mit dem Tensid stand.

#### 12.4.3. Solubilisate

Von folgenden in ihrer Struktur verschiedenen Modellsolubilisaten (Abschn. H. 2.1.) wurde die Solubilisierkapazität in 10 %igen Lösungen von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup>, Decaglycerinmonolaurat und Mono-Polyglycerinester der Caprylsäure nach der im Abschn. E. 12.1.2. beschriebenen Methode bestimmt:

(A) p-Hydroxibenzoësäuremethylester	MG 152,2
(B) Proquazon	MG 278,4
(C) Progesteron	MG 314,5
(D) Isradipin	MG 371,4
(E) Ciclosporin	MG 1'202,6

**Tabelle 39:**

Solubilisierkapazität von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup>, Decaglycerinmonolaurat und Mono-Polyglycerinester der Caprylsäure im Vergleich zu Cremophor<sup>R</sup> EL für strukturell verschiedene Modellsolubilisate.

10 %ige Solubilisatorlösung in Wasser	Solubilisierkapazität [mg/ml] für verschiedene Solubilisate				
	A	B	C	D	E
L-1695 <sup>R</sup>	8	3	3	< 1	16
Decaglycerin-monolaurat	11	1	< 1	< 1	1
Mono-Polyglycerinester der Caprylsäure	10	1	< 1	< 1	1
Cremophor <sup>R</sup> EL	14	1	< 1	1	8,5

Für Proquazon, Progesteron und Ciclosporin ist Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> im Vergleich zu den anderen Tensiaen der beste Solubilisator. L-1695<sup>R</sup> vermag praktisch doppelt soviel Ciclosporin als Cremophor<sup>R</sup> EL zu solubilisieren.

Isradipin liess sich in keinem der untersuchten Tenside befriedigend solubilisieren. Der p-Hydroxibenzoësäuremethylester wird in einer Cremophor<sup>R</sup> EL-Lösung am besten solubilisiert. Vermutlich löst sich diese Substanz nicht nur im lipophilen Teil, sondern auch in der Palisadenschicht des EO-Tensids. Die Solubilisierkapazität eines Tensids bestimmter Konzentration ist für ein Solubilisat spezifisch.

#### 12.4.4. Tensidkonzentration

Über den Einfluss der Tensidkonzentration verschiedener ionischer und nicht-ionischer Solubilisatoren auf die Solubilisierkapazität für Ciclosporin wurde im Abschn. E. 12.3.2. ausführlich berichtet.

## 12.4.3. Tensidstruktur

### Art des hydrophilen Tensidteiles

**Tabelle 40:**

Solubilisierkapazität von Fettsäuretensiden mit unterschiedlichem hydrophilem Rest.

Lipophile Tensidteil	Hydrophile Tensidteil	Solubilisierkapazität der 10 %igen Lösung für Ciclosporin
Laurinsäure	Saccharose Raffinose Decaglycerin $\text{SO}_4^- \text{Na}^+$	16 mg/ml 13,5 mg/ml 1 mg/ml 95 mg/ml
Stearinsäure	40 EO Saccharose	8 mg/ml 26,6 mg/ml
Ölsäure	41 EO Saccharose Raffinose $\text{COO}^- \text{Na}^+$	5 mg/ml 25 mg/ml 20 mg/ml 69 mg/ml
Ricinolsäure	40 EO $\text{COO}^- \text{Na}^+$ $\text{COO}^- \text{K}^+$	8,5 mg/ml 95 mg/ml 85 mg/ml

Für Ciclosporin erwiesen sich die Seifen als beste Solubilisatoren, gefolgt von den nichtionischen Tensiden in der Reihenfolge Saccharoseester, Raffinoseester, EO-Tenside und schliesslich den Polyglycerinestern. Dies kann auf den Einfluss des hydrophilen Tensidteiles auf die Mizellform und -grösse zurückgeführt werden.

Ein Vergleich von isomolaren Lösungen von Kalium- und Natriumricinoleat ergab für beide Lösungen Übereinstimmend eine Solubilisierkapazität von 42 mg/ml. Verglichen wurden Lösungen mit 0,2 Mol/Liter, was einer Konzentration von 6,7 % Kalium- und 6,4 % Natriumricinoleat entsprach. Die Art des Kations hatte keinen Einfluss auf die Solubilisierkapazität [86]. Ein Vergleich von isomolaren Lösungen von Saccharose- und Raffinosemonolaurat und -monooleat ergab identische Solubilisierkapazitäten für Ciclosporin. Der Vergleich von isomolaren Lösungen wurde bei den Seifen und den Zuckerestern als gerechtfertigt erachtet, da sie als reine Substanzen mit bekanntem Molekulargewicht vorlagen.

#### EO-Kettenlänge

Der Vergleich der Solubilisierkapazitäten (Tabelle 31) für Ciclosporin in 10 %igen Lösungen von Cremophor<sup>R</sup> RH 40 / Solutol<sup>R</sup> HS 15

Cremophor<sup>R</sup> EL / Ricinolsäure + 20 EO

Cremophor<sup>R</sup> RH 40 / 12-Hydroxistearinsäure + 18 EO

Ölsäure + 41 EO / Ölsäure + 20 EO

ergab, dass die Solubilisierkapazität proportional der EO-Kettenlänge zunahm.

Bei verschiedenen polyethoxilierten Laurylalkoholen und dem Solubilisat Gelb OB hat auch Tokiwa [108] diesen Effekt beschrieben. Im Gegensatz dazu haben Ullmann und Mitarbeiter [107] mit zunehmender EO-Kettenlänge keine Zunahme der Solubilisierkapazität festgestellt.

#### Fettsäurekettenlänge

Bei den Zuckerestern wurde der Einfluss der Fettsäurekettenlänge auf die Solubilisierkapazität für Ciclosporin untersucht. Sowohl bei den Saccharose- als auch den Raffinoseestern wurde festgestellt, dass die Solubilisierkapazität proportional der Länge des lipophilen Tensidteiles zunahm.

Die Solubilisierkapazität von Saccharosemonoxyristat M-1695<sup>R</sup> (C 14) lag unter der von Saccharosemonolaurat (C 12) und Saccharosemonostearat (C 18). Dieses ungewöhnliche Verhalten des Saccharosemonoxyristat M-1695<sup>R</sup> beruht auf dem geringen Monoesteranteil (Abschn. E. 12.4.6.). Die Zunahme der Solubilisierkapazität der Fettsäuren mit 10, 12 und 18 C verhielt sich zur Fettsäurekettenlänge linear.

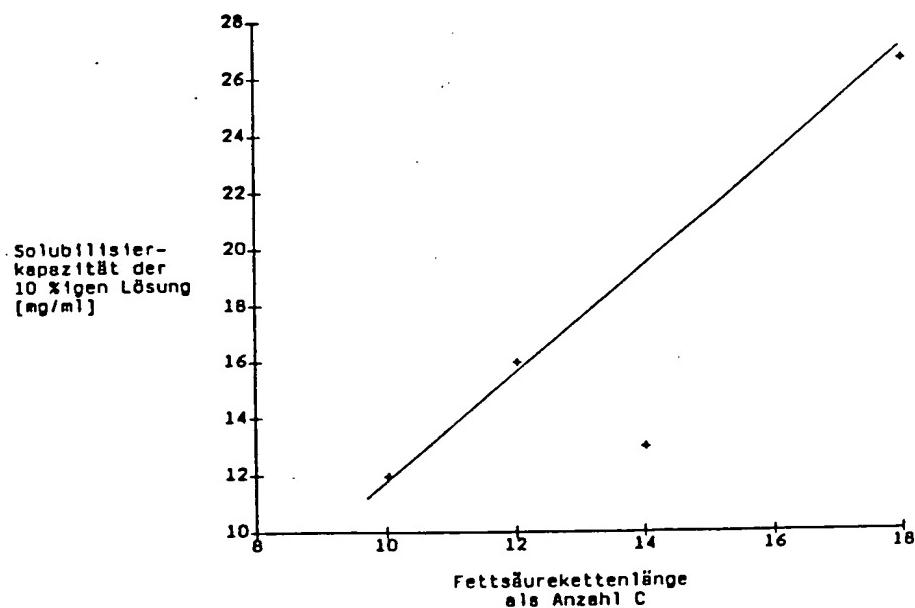


Abbildung 21:

Verhältnis der Fettsäurekettenlänge zur Solubilisierkapazität von Saccharoseestern bei 23°C.

Bei PEG-900-sorbitanmonoestern mit steigender Kettenlänge haben auch Ullmann und Mitarbeiter [107] zunehmende Löslichkeit des Salicylsäurephenylesters festgestellt. Hoffmann und Ulbricht [218] haben gezeigt, dass die Solubilisierkapazität proportional der lipophilen Tensidkettenlänge zunimmt, die Zunahme jedoch für verschiedene Solubilisatsysteme pro  $\text{CH}_2$ -Gruppe unterschiedlich war.

#### Doppelbindung

Sowohl bei den EO-Tensiden als auch den Saccharoseestern war die Solubilisierkapazität von Solubilisatoren mit einer Doppelbindung in der Fettsäurekette vermindert. Dies ergab sich aus dem Vergleich der EO-Tenside Ölsäure + 41 EO / Myrj<sup>R</sup> 52, Ricinolsäure + 20 EO / 12-Hydroxistearinsäure + 18 EO, Cremophor<sup>R</sup> EL / Cremophor<sup>R</sup> RH 40 (Tabelle 31) und der Saccharoseester Monooleat / Monostearat (Tabelle 32). Nach einem Vergleich der Solubilisierkapazitäten von PEG-900-sorbitanmonostearat und PEG-900-sorbitanmonooleat für Salicylsäurephenylester publizierten Ullmann und Mitarbeiter [107] für den Solubilisator mit Doppelbindung eine erhöhte Solubilisierkapazität. Von einem nachteiligen Einfluss einer Doppelbindung auf die Solubilisierkapazität von Seifenlösungen berichteten Kolthoff und Stricks [219].

#### Hydroxilgruppe

Bei den EO-Tensiden wirkte sich eine Hydroxilgruppe im lipophilen Tensidmolekülteil auf die Solubilisierkapazität positiv aus. Dies ergab sich aus dem Vergleich von Cremophor<sup>R</sup> RH 40 / Myrj<sup>R</sup> 52, Cremophor<sup>R</sup> EL / Ölsäure + 20 EO (Tabelle 31). Derselbe Effekt zeigte sich beim Vergleich der beiden Seifen Natriumricinoleat / Natriumoleat (Tabelle 34).

#### 12.4.6. Grösse und Form der Mizellen

Gedeon [220] hat gezeigt, dass das Solubiliservermögen von der Grösse der gebildeten Mizellen abhängt. In seinen Versuchen konnte er umso mehr solubilisieren, je kleiner die Mizellen waren. Eine Abhängigkeit der Solubilisierkapazität von der Mizellform haben Ozeki und Ikeda [175] publiziert. Sie schrieben den stabförmigen Mizellen grössere Solubilisierkapazität zu als den kugelförmigen. Die Mizellform ihrerseits ist abhängig von der Tensidkonzentration (Abschn. D. 3.3.3.). Aus Viskositätsmessungen kann auf die Form und Grösse von Mizellen geschlossen werden (Abschn. D. 3.3.4.). Eine Änderung der Mizellform und -grösse in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration kann mit einer Änderung der Viskosität einhergehen.

Die Solubilisierkapazitäten von Saccharosemonomyristatlösungen M-1695<sup>R</sup> und Saccharosemonolauratlösungen L-1695<sup>R</sup> bis 10 % Tensid wurden zum rheologischen Verhalten in Bezug gesetzt. Mit einem Rotationsviskosimeter wurden die Visko-

sitäten von L-1695<sup>R</sup> und M-1695<sup>R</sup> (Abschn. E. 13.4.) verschiedener Konzentrationen in Wasser bestimmt. Der Verlauf der Viskositätszunahme der Tensidlösungen (Abschn. H. 1.3.) wurde mit der Zunahme der Solubilisierkapazität für Ciclosporin verglichen. Die Beziehungen sind in Abbildung 22 zusammengestellt.

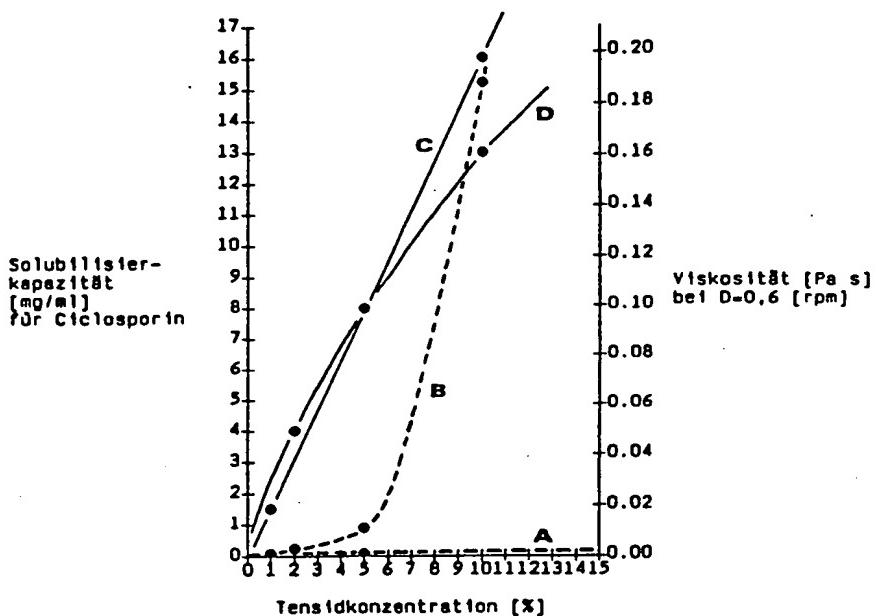


Abbildung 22:

Verlauf der Zunahme der Solubilisierkapazität für Ciclosporin von L-1695<sup>R</sup> und M-1695<sup>R</sup>, verglichen mit dem Verlauf der Zunahme der Viskosität dieser beiden Tenside in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration.

(A) Viskosität von L-1695<sup>R</sup>, (B) Viskosität von M-1695<sup>R</sup>, (C) Solubilisierkapazität von L-1695<sup>R</sup>, (D) Solubilisierkapazität von M-1695<sup>R</sup>.

Bis 10 % Tensid blieb die Viskosität von L-1695<sup>R</sup> unverändert und die Solubilisierkapazität nahm direkt proportional zu. In demselben Konzentrationsbereich nahm die Viskosität von M-1695<sup>R</sup> stark zu, während die Solubilisierkapazität einem Sättigungswert zustrebte. Dieses Verhalten wird auf eine Veränderung der Mizellform in diesem Konzentrationsbereich zurückgeführt. Der deklarierte Monoesteranteil von M-1695<sup>R</sup> betrug nur ca. 80 %. Der relativ hohe Anteil an Polyestern bewirkt die Bildung von Mischmizellen (Abschn. E. 12.2.) und äußert sich im Anstieg der Viskosität und in der verminderten Solubilisierkapazität.

#### 12.4.7. Zusammenfassung und Diskussion

Im Kapitel E. 12.4. wurden verschiedene Faktoren untersucht, die die Solubilisierkapazität beeinflussen können. Diese Faktoren sind in Abbildung 23 zusammengefasst. Sie nehmen Einfluss auf die Größe und Form der Mizellen (Abschn. D. 3.3.3.) und zeigen so ihre Wirkung auf die Solubilisierkapazität.

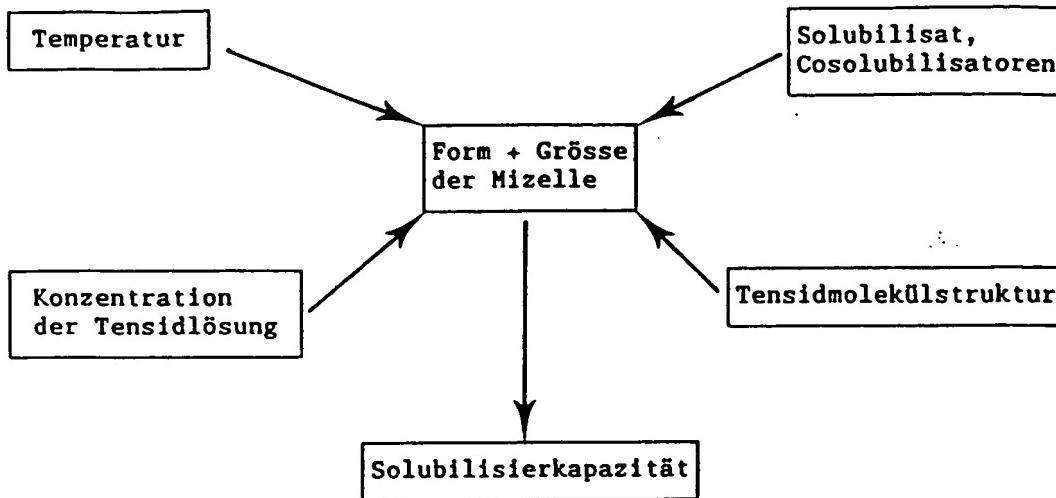


Abbildung 23:

Zusammenhang der Einflussfaktoren auf die Solubilisierkapazität.

Der Einfluss eines Faktors auf das Solubiliservermögen kann nicht generalisiert werden. Die Verhältnisse sind für jedes Solubilisatsystem charakteristisch. Mitchell und Wan [75] sowie Ullmann und Mitarbeiter [107] verwendeten das Verhalten der Solubilisierkapazitäten bei Variation der EO-Kettenlänge zur Deutung der Lokalisation des Solubilisates in der Mizelle. Weil sich das Solubilisationsvermögen für Salicylsäurephenylester praktisch nur in Abhängigkeit vom lipophilen Tensidmolekülteil, nicht aber bei Variation der Polyethylenglykolkette änderte, schloss Ullmann auf eine Einlagerung des Solubilisates im Kohlenwasserstoffkern der Mizellen. Diesen Befund konnte sie durch Nachweis der Lokalisation mittels UV (Abschn. D. 3.7.2.) bestätigen. Im Umkehrschluss könnte nun angenommen werden, dass Ciclosporin in den untersuchten EO-Tensiden nicht nur im Mizellzentrum, sondern auch in der Palisadenschicht der Mizelle solubilisiert wird. Die Polyoxiethylenketten nehmen eine Spiralstruktur ein [22] [46], der Hüttenrauch und Fricke [221] für die Solubilisierung eine Bedeutung zumassen.

### 13. Zuckerfettsäureester als Solubilisatoren

#### 13.1. Toxikologie der Zuckerester

##### 13.1.1. Biologischer Abbau

Die Zuckerester geradkettiger aliphatischer Monocarbonsäuren sind als einzige nichtionische, zu 100 % biologisch abbaubare Tenside auf Naturstoffbasis bekannt [60]. Auch Fettsäurezuckerester, die Hydroxylgruppen im Fettsäurerest enthalten, werden bakteriell vollständig abgebaut [45] [174]. In vergleichenden Studien wurde Saccharosemonopalmitat bakteriell schneller als EO-Tenside abgebaut [58]. Dem eigentlichen Bioabbau der Zuckerester geht eine Spaltung in Zucker und hydrophobe Komponente voraus. Analog der Zersetzung im Intestinaltrakt scheinen dafür unspezifische Esterasen verantwortlich zu sein [222].

##### 13.1.2. Perorale Anwendung

Die in der Literatur beschriebenen Zuckertenside sind bei peroraler Anwendung ungiftig und in vielen Ländern als Lebensmittelzusätze zugelassen [222] [223]. Der Code of Federal Register [224] sieht für die Saccharosefettsäureester keine Maximaldosis vor. Verschiedene Zuckerester werden in der Pharmazie neuerdings zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit verwendet. Nakada und Mitarbeiter [225] mischten Calcitonin und Saccharosestearat. Mit demselben Tensid verarbeitete Formulierungen verschiedener Wirkstoffe testeten Kakemi und Mitarbeiter [126] an der Ratte. Eine verbesserte Bioverfügbarkeit von Ciclosporin in der Lymphe haben Takada und Mitarbeiter [226] nach Versuchen an Ratten beschrieben.

##### 13.1.3. Anwendung auf der Haut

Die dermatologische Verträglichkeit der Zuckerester wurde von Manneck [158] untersucht. In einem Test, der an verschiedenen Hauttypen und bei verschiedenen Altersklassen durchgeführt wurde, ergaben die Fettsäurezuckerester praktisch keine Reaktion [61]. Zuckerester wurden am Kaninchenauge gut vertragen [227]. In der Kosmetik erwiesen sich die Raffinoseester als völlig unschädlich [228] [229]. Es sollten möglichst nur gereinigte Zuckerester verwendet werden, die geruchlos und geschmackfrei sind [188]. Die Vorteile der Fettsäurezuckerester gegenüber den Ethylenoxidaddukten in der Dermatologie haben Gerhardt und Liebscher [222] zusammengestellt: Sie entfernen den kutanen Fettfilm nicht völlig, verändern den pH-Wert der Haut nicht und fördern die Geschmeidigkeit. Ihre Wirkung reicht nicht bis in die tieferen Hautschichten.

### 13.1.4. Intravenöse Anwendung

Mima [148] beschrieb als erster die hämolytische Wirkung von Saccharosemonoestern in vitro. Nach seinen Angaben zeigte das Saccharosemonomyristat die stärkste Hämolyseaktivität. Dies haben Hopkins und Small [159] mit Rattenblut bestätigt. Versuche mit intravenös am Hund applizierten Zuckerestern ergaben keine toxische Wirkung [230]. Schweisheimer [227] berichtete von ausgebliebenen unerwünschten Nebenwirkungen nach Injektion von Zuckerestern. In den Versuchen von Mima und Mitarbeitern [203] fiel die Hämolyseaktivität von Raffinosemonoestern weniger stark als die von Saccharosemonoestern aus. Da die Hämolyseaktivität der Zuckerester stärker als die der meistverwendeten nicht-ionischen Tenside ist, ist bei der Verwendung zur intravenösen Applikation Vorsicht geboten [22]. Weitere publizierte Untersuchungen über intravenöse Anwendung von Zuckerestern lagen keine vor.

### 13.2. Zuckesterlösungen i.v. am Hund

Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> und Raffinosemonolaurat wurden mit intravenöser Injektion am Hund getestet. Die Hämolyseaktivität dieser beiden Tenside mit frisch gewonnenem venösem Vollblut eines männlichen Hundes zeigte in vitro keine Unterschiede zu den Werten der Tabellen 23 und 24. Es wurden je 1 %ige Lösungen durch Lösen des Zuckeresters in 0,9 %iger NaCl-Lösung und anschließender Keimfiltration hergestellt. 20 ml der Lösungen wurden dem Hund (männlicher Hund Nr. 115, Gewicht 10,6 kg) mittels einer Braun Melsungen Dosierpumpe innert 20 Minuten intravenös infundiert, nachdem er in der Hängematte befestigt und kathetrisiert wurde. Während und nach der Infusion zeigte der Hund kein spezielles Verhalten. 20 Minuten nach Beginn der Infusion wurde Blut im Harn festgestellt. Nach 24 Stunden Aufenthalt im Stoffwechselkäfig befand sich kein Blut im Harn.

### 13.3. Ciclosporinsolubilisat i.v. am Hund

Ciclosporinsolubilisatlösungen mit Saccharose- und Raffinosemonolaurat wurden mit dem Handelspräparat Sandimmune<sup>R</sup> Infusionskonzentrat im Tierversuch verglichen. Drei Beagle-Hunde erhielten im Crossover Infusionen von je 20 ml und die Blutspiegelkurven des Wirkstoffes wurden über 48 Stunden aufgenommen. Verwendet wurden die männlichen Hunde Nr. 115 (10,6 kg), Nr. 222 (10,8 kg) und Nr. 223 (11,0 kg). Es wurden isotone Lösungen mit 1,5 mg Ciclosporin pro ml hergestellt. Zur Solubilisation dieser Wirkstoffmenge wurden 10 mg L-1695<sup>R</sup> und 17 mg Raffinosemonolaurat pro ml eingesetzt. Das Sandimmune<sup>R</sup> Infusionskonzentrat (Abschn. H. 2.1.1.) wurde mit isotoner Kochsalzlösung auf einen Gehalt von 1,5 mg Ciclosporin pro ml verdünnt. Die drei Formulierungen wurden keimfiltriert und den Hunden mit einer Braun Melsungen Dosierpumpe innert 20 Minuten infundiert. Den Hunden wurde 1 ml Vollblut nach den folgenden Zeiten

entnommen: Entnahme während der Infusion nach 3, 6, 15 und 20 Minuten (Ende der Infusion) und dann nach 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 32 und 48 Stunden. Die Gehaltsbestimmung an Ciclosporin in den Blutproben erfolgte in der Abteilung Biopharmazeutik der Pharma Forschung der SANDOZ (Studie 87-6 mit Ciclosporin) mit einem Sandimmune<sup>R</sup> RIA mit spezifischem Antiserum. Die Tabelle 41 zeigt für jede Formulierung die Flächen unter der Kurve AUC [ng · ml<sup>-1</sup> · h] und die maximale Blutspiegelkonzentration C<sub>max</sub> [ng/ml] mit der Zeitangabe t<sub>max</sub> [h], nach der sie bei jedem Hund erreicht wurde. Die Werte wurden nicht auf die tatsächlich applizierte Dosis korrigiert. Eine Gehaltsanalyse der Formulierungen hat unbedeutende Abweichungen vom eingestellten Gehalt ergeben.

**Tabelle 41:**

Blutspiegelkurve nach intravenöser Applikation von Ciclosporin mit Saccharose- und Raffinosemonolaurat als Solubilisatoren im Vergleich zum Sandimmun<sup>R</sup> Infusionskonzentrat. Es bedeuten  $\bar{x}$  = Mittelwert, s = Standardabweichung,  $s_{\text{rel}}$  = Variationskoeffizient und  $s_{\bar{x}}$  = Streuung des Mittelwertes.

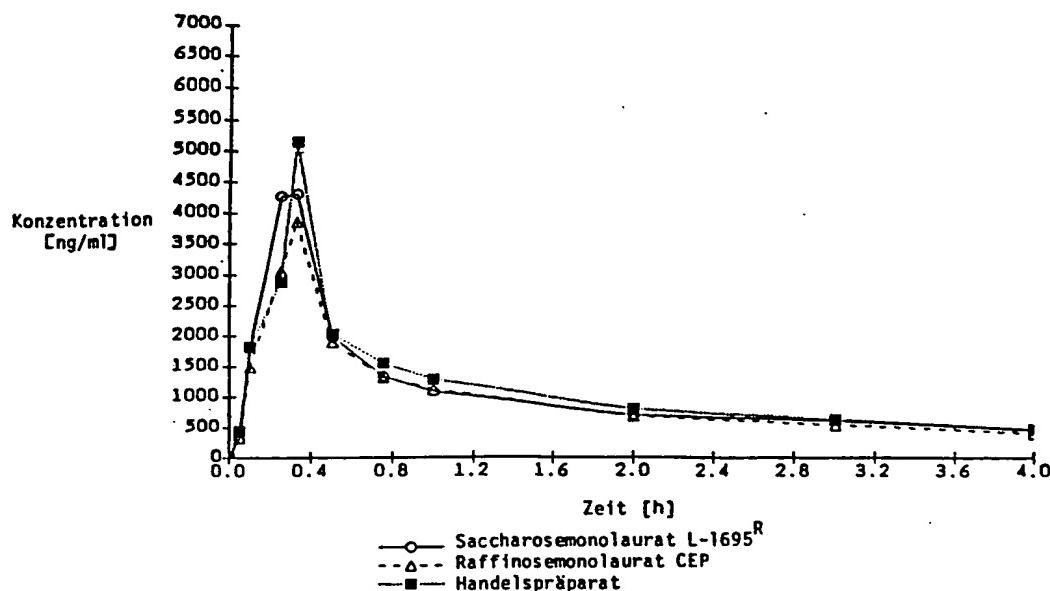
	Hund Nr.	AUC Über 48 h [ng · ml <sup>-1</sup> · h]	C <sub>max</sub> [ng/ml]	t <sub>max</sub> [h]
--	----------	--	-----------------------------	-------------------------

Saccharosemonolaurat L-1695 <sup>R</sup> als Solubilisator				
	115	8038	4627	0,33
	222	6875	3007	0,33
	223	11265	6793	0,25
$\bar{x}$		8726	4809	0,303
s		2274	1899	0,046
$s_{\text{rel}}$		26,06 %	39,49 %	15,22 %
$s_{\bar{x}}$		1313	1096	0,026

Raffinosemonolaurat CEP als Solubilisator				
	115	7122	4289	0,33
	222	6940	2977	0,33
	223	10474	4382	0,33
$\bar{x}$		8178	3882	0,33
s		1989	785,7	0
$s_{\text{rel}}$		24,33 %	20,23 %	0
$s_{\bar{x}}$		1148	453,6	0

Sandimmun <sup>R</sup> Infusionskonzentrat				
	115	7521	3922	0,33
	222	8089	6424	0,33
	223	11913	5132	0,33
$\bar{x}$		9174	5159	0,33
s		2388	1251	0
$s_{\text{rel}}$		26,03 %	24,25 %	0
$s_{\bar{x}}$		1379	722,3	0

Abbildung 24 zeigt den Verlauf der Blutspiegelwerte über 4 Stunden für jede applizierte Solubilisatlösung, gemittelt aus den Versuchen an den drei Hunden.

**Abbildung 24:**

Blutspiegelkurven (Mittelwerte) über 4 Stunden bei je drei Hunden nach intravenöser Applikation von Ciclosporin.

Die Blutspiegelkurven sind praktisch identisch. Die Verweilzeit der Zuckesterestersolubilisate in der Blutbahn unterscheidet sich nicht von der des Sandimmun<sup>R</sup> Infusionskonzentrates, was auf die gleiche Verteilung des Wirkstoffes im Organismus schliessen lässt.

#### **13.4. Viskosität von Saccharoseestern**

Das rheologische Verhalten der Saccharoseester wurde an Saccharosemonoxyristat M-1695<sup>R</sup> und Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> bei +23°C untersucht.

##### **Gerätespezifische Daten:**

- Brookfield Synchro-Lectric Rotationsviskosimeter Typ LVT
- Messkolben: Ø 2,5 cm, Höhe 9,0 cm
- Messgefäß: Ø 2,8 cm, 18,0 ml Probeflüssigkeit

Bei 8 verschiedenen Schergeschwindigkeiten D [rpm] wurden die Schubspannungen  $\tau$  [Pa] direkt abgelesen. Nach Multiplikation von  $\tau$  mit dem gerätespezifischen Umrechnungsfaktor jeder Schergeschwindigkeit liess sich die dynamische Viskosität  $\eta$  [Pa s] errechnen.

Die gemessenen und berechneten Werte sind im Tabellenanhang (Abschn. H. 1.3.) zu finden. Aus dem Rheogramm von L-1695<sup>R</sup> und M-1695<sup>R</sup> in Abbildung 25 ging hervor, dass Lösungen von Saccharoseestern Newtonsches Fließverhalten zeigen.

In den Abbildungen 26 und 27 sind die Viskositäten bei zunehmender Tensidkonzentration dargestellt. Die starke Zunahme in Lösungen von M-1695<sup>R</sup> wurde im Kapitel E. 12.4.6. besprochen.

Für die Praxis hat das Newtonsche Fliessverhalten der Zuckerester den Vorteil, dass ihre Lösungen problemlos durch Spritzenadeln appliziert werden können. Rheologische Bestimmungen an einer Solubilisat-Lösung mit 25 % L-1695<sup>R</sup> und 40 mg Ciclosporin pro ml ergaben auch für die Solubilisat-Lösung Newtonsches Fliessverhalten. Die Viskosität der Solubilisat-Lösung war gegenüber der reinen Tensidlösung um den Faktor 7 erhöht.

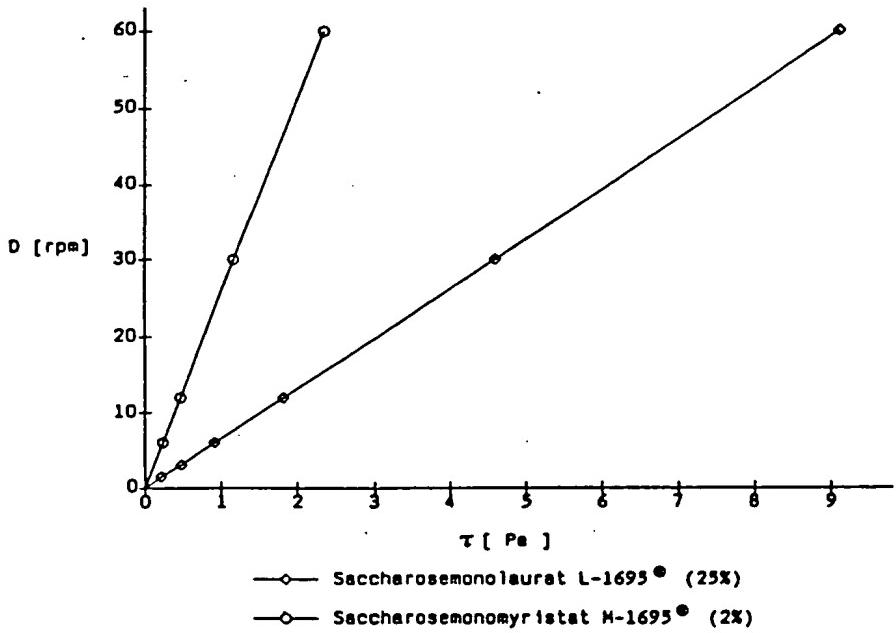
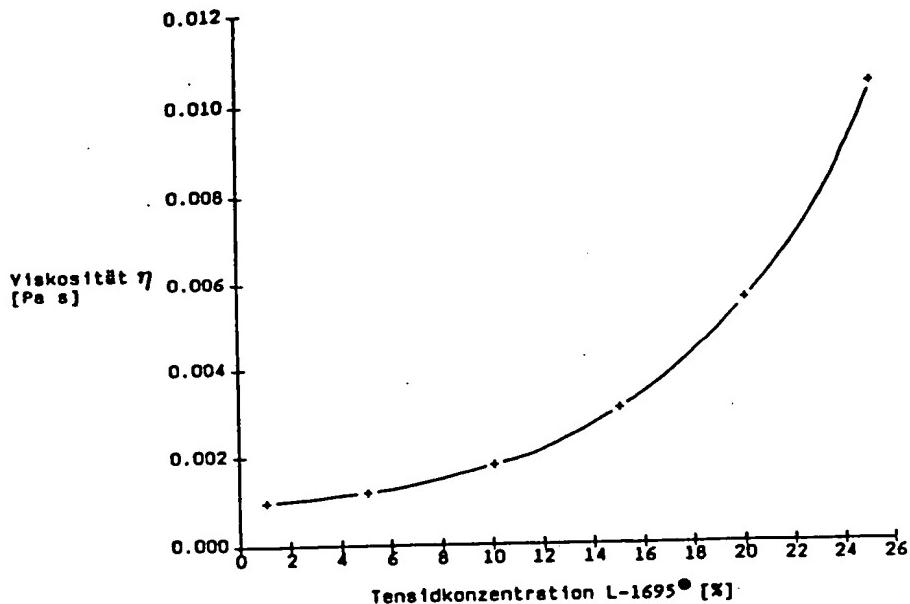
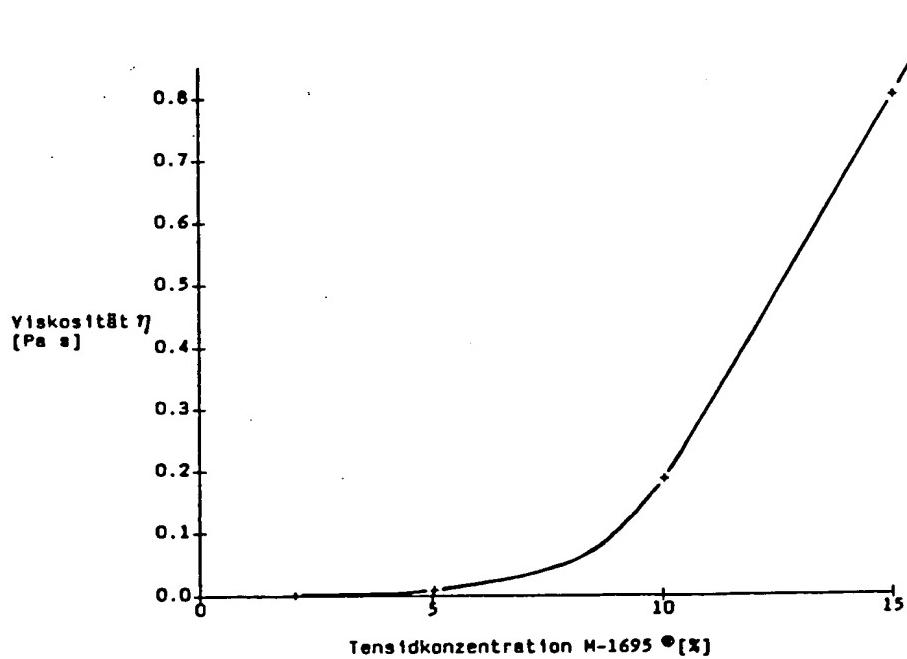


Abbildung 25:

Rheogramm einer 25 %igen Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup>- und einer 2 %igen Saccharosemonomyristat M-1695<sup>R</sup>-Lösung. Werte der Tabellen im Abschn. H. 1.3.

**Abbildung 26:**

Viskosität  $\eta$  im Verhältnis zur Tensidkonzentration von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> bei der Schergeschwindigkeit D = 30 [rpm] und Raumtemperatur. Werte der Tabelle im Abschn. H. 1.3.1.

**Abbildung 27:**

Viskosität  $\eta$  im Verhältnis zur Tensidkonzentration von Saccharosemonomyristat M-1695<sup>R</sup> bei der Schergeschwindigkeit D = 0,6 [rpm] und Raumtemperatur. Werte der Tabelle im Abschn. H. 1.3.2.

Mitte dieses Jahrhunderts waren im Zuge der Bemühungen, das Überschussprodukt Zucker zu verwerten, von der American Sugar Research Foundation [231] umfangreiche Forschungsarbeiten durchgeführt worden, um Fettsäuren mit Zucker in Zuckerester zu überführen. Sie wurden als nichtionische Tenside, die keine Salze und damit auch keine Kalkseifen bilden können, in die Reihe der nichtionischen Waschmittel eingeordnet. Es wurde eine Reihe von Saccharose- und Raffinoseestern synthetisiert und ihre physikalischen Eigenschaften sowie ihr Schaum- und Waschvermögen beschrieben [45] [52] [152] [155] [157] [168] [188] [222] [232] [233]. Als Detergentien kam den Zuckertensiden anfänglich nur wenig Bedeutung zu, da sie geringe Oberflächen- und Waschaktivität und unwirtschaftlich hohe Gestehungspreise zeigten. Kurzzeitig wuchs das Interesse an dieser Tensidklasse wieder anfangs der Sechzigerjahre, als sich aus Umweltschutzgründen ein Trend nach vollständig bioabbaubaren Tensiden abzeichnete. Doch auch durch Substitution der Fettsäuren konnte die Waschaktivität nicht entscheidend verbessert werden. Aus diesem Grund erlosch das Interesse an den Zuckerestern als Waschmittel [45]. Ihre Bedeutung als untoxische Tenside haben sie in der Lebensmittelindustrie und Kosmetik erlangt [232]. In der Pharmazie beschränkte sich ihre Anwendung auf den Einsatz als Emulgatoren in kutanen und peroralen Formulierungen. Neuerdings gewannen einige Zuckerester als Bioverfügbarkeitsverbesserer von Wirkstoffen an Bedeutung [126] [225] [226]. Als Solubilisatoren wurden wasserlösliche Tenside bisher nur für Öle und Vitamine zur peroralen Applikation verwendet. Nachdem Hopkins und Small [159] den Zuckerestern starke Hämolyseaktivität zuschrieben, wagte sich kaum mehr ein Forscher an die Prüfung der Zuckerester als intravenös applizierbare Solubilisatoren. Heute dürfte die Bedeutung dieser Tenside in der Pharmazie wieder zunehmen. Zucker hat als Biorohstoff gegenüber Ethylenoxid den Vorteil, dass bei der Synthese keine carcinogenen Stoffe anfallen. Die Weiterentwicklung der Zuckerester als pharmazeutische Tenside erscheint vom ökonomischen Faktor abhängig zu sein [222]. Die Aufarbeitung der synthetisierten Zuckerester ist recht kostspielig und die Entfernung des toxischen Lösungsmittels Dimethylformamid aufwendig. Desai und Lowicki [54] haben bereits ein Herstellungsverfahren ohne Lösungsmittel publiziert. In eigenen Versuchen wurde die Hämolyseaktivität verschiedener Zuckerester mit anderen Tensiden verglichen. Angesichts einer fehlenden Korrelation in vitro/in vivo erschien es angebracht, zwei Zuckerester vorerst am Hund intravenös zu prüfen. Studien über die Verträglichkeit von Zuckerestern nach i.v.-Applikation am Menschen waren in der Literatur keine publiziert worden. Aus den Reihen der Saccharose- und Raffinoseester lässt sich ein wasserlösliches Tensid zur Solubilisation von Ciclosporin auslesen, das mit zunehmender Fettsäurekettenlänge höhere Solubilitätskapazität, aber auch stärkere Hämolyseaktivität zeigt. Diese beiden

Kriterien gilt es bei der Formulierung einer intravenös applizierbaren Form gegeneinander abzuwägen.

#### **14. Polyglycerinester als Stabilisatoren**

##### **14.1. Toxikologie der Polyglycerinester**

Der Metabolismus der Polyglycerinester nach peroraler Verabreichung an Ratten [234] und an freiwilligen Menschen [235] wurde überprüft. Dabei wurde festgestellt, dass der Fettsäurerest in gleicher Weise im Körper metabolisiert wird wie der eines Triglycerides. Der Polyolrest wurde über die Nieren ausgeschieden. Als Lebensmittelzusätze hat die FDA Fettsäureester der Polyglycerine mit einem Polymerisationsgrad von 10 ohne Mengenbeschränkung zugelassen [5] [236] [237]. Die Polyglycerinester fanden seit 1940 in den USA, Japan und Europa als Emulgatoren in der Kosmetik- und Lebensmittelindustrie grosse Bedeutung [161] [163] [238]. Ostertag und Wurziger [239] machten Untersuchungen über den Verbleib und die Nachweisbarkeit. Polyglycerinester wurden an Ratten intraperitoneal injiziert. Sie prüften Extrakte aus Depotfetten, Organ- und Körperauszügen mittels Papierchromatographie und konnten Polyglycerine nachweisen. Hingegen wurden zusammen mit Futter selbst in hohen Dosen applizierte Polyglycerinfettsäureester nirgends im Rattenkörper abgelagert. Neuere japanische Arbeiten berichteten von der Anwendung in Wasser unlöslicher Polyglycerinfettsäureester zur Bioverfügbarkeitsverbesserung von pharmazeutischen Wirkstoffen [240] [241] [242]. Über Studien intravenös applizierter wasserlöslicher Polyglycerinester am Menschen lag keine Literatur vor.

##### **14.2. Decaglycerinmonolaurat i.v. am Hund**

Decaglycerinmonolaurat wurde mit intravenöser Injektion am Hund getestet. Es wurde eine 1 %ige Lösung in 0,9 %iger NaCl-Lösung mit anschliessender Keimfiltration hergestellt. 20 ml der Lösung wurden dem Hund (männlicher Hund Nr. 115, Gewicht 10,6 kg) mittels einer Braun Melsungen Dosierpumpe innerst 20 Minuten intravenös infundiert, nachdem er in der Hängematte befestigt und kathe drisiert wurde. Während und nach der Infusion zeigte der Hund kein spezielles Verhalten. 20 Minuten nach Beginn der Infusion wurde Blut im Harn festgestellt. Nach 24 Stunden Aufenthalt im Stoffwechselkäfig befand sich kein Blut im Harn.

##### **14.3. Diskussion**

Bei der intravenösen Injektion von Polyglycerinestern ist damit zu rechnen, dass die Esterbindungen schnell hydrolysiert werden. Besondere Beachtung muss dem Metabolismus der Polyglycerinketten mit ihren Etherbindungen geschenkt werden. Ausser der Untersuchung von Ostertag und Wurziger [239] lagen keine

Publikationen über die Ausscheidung von Polyglycerinen nach Injektion vor. Die Frage bleibt offen, ob diese Verbindungen im menschlichen Depotfett gelagert werden oder wie z.B. die Ethylenoxidkette über die Nieren ausgeschieden werden. Zur Klärung dieser Frage ist ein besseres analytisches Nachweisverfahren an Stelle der von Ostertag verwendeten Papierchromatographie angebracht. Gartian und Aserin [243] haben eine HPLC-Methode zur Analyse von Polyglycerinestern beschrieben.

Als Solubilisatoren für Ciclosporin haben sich die untersuchten Polyglycerinmonofettsäureester nicht bewährt (Tabelle 39). Der lipophile Tensidmolekülteil von Mono-Polyglycerinestern der Caprylsäure (C 8) scheint zu kurz zu sein, um einen genügend grossen lipophilen Bereich in der Mizelle zu bilden, in dem grössere Mengen Ciclosporin solubilisiert werden können. Wurde die Fettsäure um 4 C und die Polyglycerinkette auf 10 Glycerineinheiten verlängert, so zeigte sich noch immer keine Steigerung der Solubilisierkapazität für Ciclosporin. Eventuell spielt hier eine Rolle, dass neben linearen auch cyclische Polyglycerinketten vorhanden sein können (Abschn. E. 2.1.).

Decaglycerin vermag als Esterverbindung höchstens Laurinsäure (C 12) in Wasser klar zu lösen. Nach Babayan und Mitarbeitern [161] ist Decaglycerinmonomyristat (C 14) in Wasser nur dispergierbar (Abschn. E. 6.3.3.). Für Ciclosporin konnte kein Polyglycerinester als Solubilisator gefunden werden, da eine hohe Solubilisierkapazität bei gleichzeitig guter Wasserlöslichkeit des Tensids nicht erreicht werden konnte.

### 15. Saccharosefettsäureester und Seifen als Emulgatoren

Emulgatoren sollen die hydrophobe oder hydrophile Phase fein dispergieren und die Emulsion stabil halten. Darüberhinaus müssen in pharmazeutischen Oralpräparaten und in Kosmetika verwendete Emulgatoren geruch- und geschmacklos sowie mit den aktiven Bestandteilen verträglich sein. Sie dürfen die Haut nicht reizen. Diese Forderungen werden in allen Punkten nur von wenigen Produkten erfüllt [52]. Vertreter der Saccharosefettsäureester und Seifen wurden auf ihre Eignung als Emulgatoren von Paraffinöl in Wasser untersucht.

#### 15.1. Saccharoseester als Emulgatoren

Wie im Abschn. E. 13.1. ausgeführt, entsprechen die Zuckertenside den eingangs gestellten Ansprüchen. Man kann die Saccharoseester als physiologische Emulgatoren bezeichnen. Ihr Emulgiervermögen ist eingehend untersucht worden [159] [244] [245]. Lange und Müller [61] haben für ihre Emulsionsversuche das Saccharosemonolaurat verwendet, da es gut wasserlöslich war. Die Diesterverbindungen liessen sich nicht nur in Wasser, sondern auch in öligen Phasen nur

schlecht lösbar und eigneten sich nach Lange und Müller deshalb nicht als Emulgatoren. Osipow und Mitarbeiter [233] sowie Chalmers [246] konnten feststellen, dass die Monofettsäuresaccharoseester ausgezeichnete Emulgatoren darstellten. Besonders in Kombination mit lipophilen Emulgatoren wie den Span<sup>R</sup>-Produkten oder Glycerinmonostearat gelang es ihnen, monatelang stabile Emulsionen herzustellen. Im allgemeinen sind Mischungen von gegensinnig wirkenden Emulgatoren in ihrer Emulgierwirkung wirksamer als ein hydrophiler bzw. ein lipphiler Emulgator für sich allein [130]. Die Stabilität der Emulsion ist dabei abhängig vom Mischungsverhältnis der beiden Emulgatoren. Auf dieser Abhängigkeit beruht das Prinzip der HLB-Bestimmung mittels Emulsionsvergleichsmethode (Abschn. E. 8.2.1.).

#### 15.1.1. Emulsionen mit Saccharoseestern

Es wurde das Emulgiervermögen verschiedener Zuckerester allein und in Kombination mit Glycerinmonostearat für dickflüssiges Paraffinöl in Wasser geprüft. Paraffinöl lässt sich nur schwer emulgieren. Das beste Verhältnis der Emulgatormischung sollte ermittelt werden. Emulsionen folgender Zusammensetzung wurden erstellt:

20 % Paraffinöl dickflüssig

79,5 % Wasser

0,5 % Emulgator oder Emulgatormischung in den Verhältnissen (1:1),  
(3:1), (1:3)

Die Emulgatoren wurden dem Paraffinöl/Wasser zugegeben und mittels Rührwerk homogenisiert, ohne sie vorgängig in einer der beiden Phasen zu lösen. Die Emulsionen wurden nach 24 Stunden, 1 Woche und 3 Wochen nach denselben Kriterien wie im Abschn. E. 8.2.4. beurteilt und in eine Stabilitätsreihenfolge eingeordnet. Von jeder Emulsion wurde der Emulsionstyp bestimmt.

Geprüft wurden die folgenden Emulgatoren und Emulgatormischungen:

**Tabelle 42:**

Tenside zur Prüfung ihrer Eignung als Emulgatoren von Paraffinöl/Wasser.

	Emulgatoren	Markennamen	HLB-Werte der Literatur
A	Glycerinmonostearat	Imwitor 900 K	3,8
B	Saccharosedistearat	S-170	7,0
C	Sorbitanmonolaurat	Span 20	8,6
D	Saccharosemonostearat	S-1670	10,5
E	Saccharosemonooleat	O-1570	10,7
F	Saccharosemonopalmitat	P-1670	11,1
G	Saccharosemonomyristat	M-1695	11,7
H	Saccharosemonolaurat	L-1695	13,0

**Tabelle 43:**

Emulgatorgemische zur Prüfung ihrer Eignung als Emulgatoren von Paraffinöl/Wasser.

	Emulgatorgemisch aus	Verhältnis
I	A + F	1 : 1
K	A + G	1 : 1
L	A + H	1 : 1
M	A + F	3 : 1
N	A + G	3 : 1
O	A + H	3 : 1
P	A + F	1 : 3
Q	A + G	1 : 3
R	A + H	1 : 3

Es ergaben sich die folgenden Stabilitätsreihenfolgen:

**Tabelle 44:**

Stabilitätsreihenfolgen der Emulsionen mit den Emulgatoren und Emulgatorgemischen der Tabellen 42 und 43.

Stabilitätsreihenfolgen			
Stabile Emulsion	Phasentrennung mit unterschiedlicher Trübung der Wasserphase	völlig getrennte Phasen	
<b>Nach 24 Stunden:</b>			
C	FPDAONHGIMLKR	EQ	B
<b>Nach 1 Woche:</b>			
C	PFODANHMIKLKR	QE	B
<b>Nach 3 Wochen:</b>			
C	PFDAHGRIMNOK	LQ EB	

Mit Ausnahme von Saccharosedistearat (B) handelte es sich bei allen Emulsionen um solche des Types O/W. Alle Zuckerester waren fähig, Emulsionen zu bilden, jedoch mit unterschiedlicher Stabilität. Folgende Reihenfolge wurde festgestellt: Span<sup>R</sup> 20 (C) als bester Emulgator, Saccharosemonopalmitat (F), -monostearat (D), Glycerinmonostearat (A), Saccharosemonolaurat (B), -monomyristat (G), -monooleat (E), -distearat (B). Durch Mischen von Saccharosemonopalmitat, -monomyristat und -monolaurat mit Imwitor<sup>R</sup> 900 K in drei Verhältnissen konnte keine Verbesserung der Emulsionsstabilität festgestellt werden.

#### 15.1.2. Diskussion

Lange und Müller [61] gelang es nicht, mit Saccharosemonolaurat Paraffinöl zu einer stabilen Emulsion zu verarbeiten. Sie begründeten dies mit dem hohen HLB-Wert dieses Tensids und konnten zeigen, dass Zuckerester mit tieferen HLB-Werten bessere Emulsionen ergaben. In unseren Versuchen konnte gezeigt werden, dass jeder Zuckerester ohne weiteren Emulgatorzusatz Paraffinöl zu emulgieren vermag. Im Gegensatz zu Lange und Müller wurde keine Abhängigkeit der Emulsionsstabilität vom HLB-Wert der Zuckerester festgestellt. Es wäre zu erwarten gewesen, dass sich Saccharosemonostearat S-1670<sup>R</sup> mit seinem HLB von 10,5 als bester Emulgator für Paraffinöl erweist. Sein HLB-Wert lag dem

erforderlichen HLB-Wert (Abschn. E. 6.2.3.) des Paraffinöls am nächsten. Es wurde festgestellt, dass aufgrund des HLB-Wertes die stabilste Emulsion nicht vorausgesagt werden kann. Für jedes Emulsionssystem muss in Stabilitätsversuchen der beste Zuckerester empirisch ermittelt werden.

### 15.2. Seifen als Emulgatoren

Die beiden Seifen Natriumoleat und Natriumricinoleat wurden als Emulgatoren von Paraffinöl in Wasser sowie der Einfluss von Glycerinmonostearat auf ihre Emulsionsstabilität geprüft. Es kamen dieselben Testanordnungen wie bei der Prüfung der Zuckerester (Abschn. E. 15.1.1.) zur Anwendung.

#### 15.2.1. Emulsionen mit Natriumoleat und Natriumricinoleat

**Tabelle 45:**

Tenside zur Prüfung ihrer Eignung als Emulgatoren von Paraffinöl/Wasser.

	Emulgator
S	Natriumoleat
T	Natriumricinoleat

**Tabelle 46:**

Emulgatorgemische zur Prüfung ihrer Eignung als Emulgatoren von Paraffinöl/Wasser.

	Emulgatorgemisch aus	Verhältnis
U	A + S	1 : 1
V	A + T	1 : 1
W	A + S	3 : 1
X	A + T	3 : 1
Y	A + S	1 : 3
Z	A + T	1 : 3

Es ergaben sich die folgenden Stabilitätsreihenfolgen:

**Tabelle 47:**

Stabilitätsreihenfolgen der Emulsionen mit den Emulgatoren und Emulgatorgemischen der Tabellen 45 und 46.

Stabilitätsreihenfolgen		
Stabile Emulsion	Phasentrennung mit unterschiedlicher Trübung der Wasserphase	völlig getrennte Phasen
Nach 24 Stunden:		
	X W V Z T U S Y	
Nach 1 Woche:		
	W X U V T Z	S Y
Nach 3 Wochen:		
	W U      X V      Z T	S Y

Alle Emulsionen waren vom Typ O/W. Beide Seifen zeigten gute Emulgatoreigenschaften, wobei sich Natriumricinoleat als der bessere Emulgator herausstellte. Mit Glycerinmonostearat konnte die Emulgierfähigkeit beider Seifen verbessert werden, am wirkungsvollsten mit einem Mischungsverhältnis von 3 Teilen Imwitor<sup>R</sup> 900 K und 1 Teil Seife.

Ein Vergleich der Emulsionen A-Z ergab nach 3 Wochen Lagerung die folgende Stabilitätsreihenfolge:

**Tabelle 48:**

Stabilitätsreihenfolge aller Emulsionen mit den untersuchten Emulgatoren und Emulgatorgemischen. Nach 3 Wochen Lagerung bei Raumtemperatur beurteilt.

Stabilitätsreihenfolge nach 3 Wochen		
Stabile Emulsion	Phasentrennung mit unterschiedlicher Trübung der Wasserphase	völlig getrennte Phasen
C      W    U      P F X D V A H G R I M N O Z T K		S Y      L Q    E B

### **15.2.2. Diskussion**

Bei den Emulsionen mit den Seifen und Imvitor<sup>R</sup> 900 K konnte die Feststellung gemacht werden, dass Mischungen von gegensinnig wirkenden Emulgatoren das Emulgiervermögen zu verbessern vermögen. Unter den gleichen Versuchsbedingungen liessen sich mit Natriumoleat und Natriumricinoleat weniger stabile Emulsionen herstellen als mit Saccharosemonolaurat, dem hydophilsten der untersuchten Zuckerester. Im Gegensatz zu den Zuckerestern konnte jedoch die Emulgierfähigkeit der Seifen durch Zugabe von Glycerinmonostearat erheblich verbessert werden. Gegenüber den Seifen haben die Zuckerester den Vorteil, nichtionisch zu sein und in Wasser gelöst einen neutralen pH-Wert zu zeigen. Sie sind mit zu emulgierenden Wirkstoffen verträglicher und aus toxikologischer Sicht auch zu peroraler Anwendung ohne Mengenbeschränkung als Emulgatoren zugelassen.

## **16. Lichtstreumessungen von Saccharosemonolauratlösungen mit Ciclosporin**

### **16.1. Methode**

Lösungen von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung und Solubilisatlösungen von Ciclosporin in diesem Tensid wurden in verschiedenen Konzentrationen mit statischen und dynamischen Lichtstreumessungen untersucht. Die Daten der Versuchsbedingungen sind im Abschn. H. 1.4. zusammengestellt. Es wurde eine konzentrierte Lösung von L-1695<sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung erstellt und diese Ausgangsprobelösung verdünnt. Als Solubilisatlösung wurde eine konzentrierte L-1695<sup>R</sup>-Lösung hergestellt und im Verhältnis von 100 Teilen L-1695<sup>R</sup> zu 14 Teilen Ciclosporin darin solubilisiert. Diese Ausgangssolubilisatlösung wurde verdünnt. Die Probelösungen wurden keimfiltriert (0,2 µm) und nach Stehenlassen während 10 Minuten ihr Streulicht bestimmt. Gemessen wurden die dimensionslose Streuintensität i im 90° Winkel relativ zu Toluol sowie der Diffusionskoeffizient D [cm<sup>2</sup>/sec]. Daraus wurde mit der Stokes-Einstein-Gleichung (Gleichung 2, Abschn. D. 3.3.4.) der hydrodynamische Radius RH [Å] bestimmt.

### **16.2. Bestimmung der CMC**

#### **16.2.1. CMC von Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup>**

In einer Tensidlösung nimmt beim Verdünnen die Streuintensität bis zur CMC direkt proportional mit der Tensidkonzentration ab. Im Bereich der CMC fällt die Streuintensität stark ab. Unterhalb der CMC ist sie im wesentlichen auf die Lösungsmittelstreuung zurückzuführen.

Von in 0,9 %iger NaCl-Lösung gelöstem L-1695<sup>R</sup> wurden in abfallenden Konzentrationen die Streuintensitäten bestimmt (Tabelle 49).

Tabelle 49:

Statische Lichtstreumessung der Tensidlösung L-1695<sup>R</sup>. Die Werte sind in den Abbildungen 28 und 29 dargestellt.

Konzentration L-1695 <sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung [%]	i
1	16,04
0,8	13,24
0,6	9,88
0,4	6,38
0,2	3,25
0,1	2,43
0,08	1,54
0,06	1,19
0,04	0,93
0,02	1,12
0,01	0,76
0,008	0,12
0,006	0,10
0	0,09

Die Werte zeigten im Bereich 0,2 bis 1 % Tensid gute Linearität, was in der Abbildung 28 die Gerade  $\alpha$  ergab.

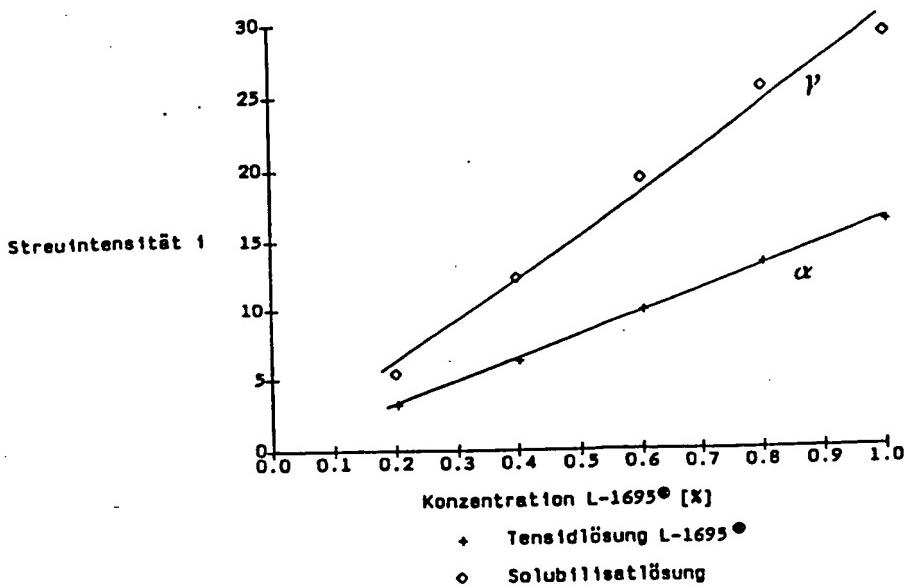


Abbildung 28:

Streuintensitäten i der reinen Tensidlösung L-1695<sup>R</sup> (Gerade  $\alpha$ ) und der Solubilisatlösung Ciclosporin in L-1695<sup>R</sup> (Gerade  $\gamma$ ) im Bereich 0,2 bis 1 % Tensid. Werte aus den Tabellen 49 und 50.

Die Streuintensitätswerte wichen zwischen 0,01 und 0,2 % Tensid von der Geraden  $\alpha$  ab. Dies ist in Abbildung 29 schraffiert dargestellt. Die drei niedrigsten Streuintensitätswerte der Tabelle 49 verhielten sich ebenfalls linear, was in Abbildung 29 die Gerade  $\beta$  ergab. Sie verbindet die Werte der Streuintensität des Lösungsmittels.

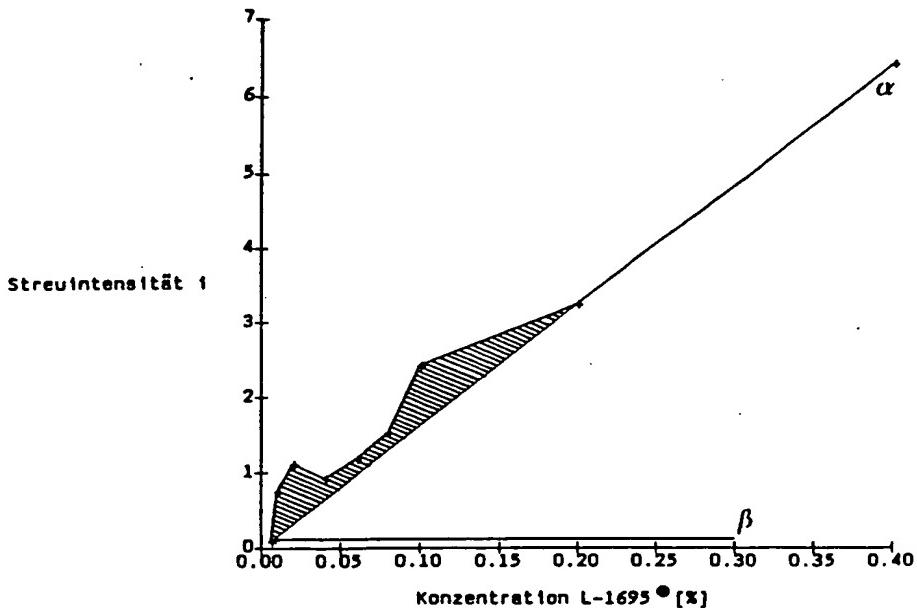


Abbildung 29:

Streuintensität  $i$  in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration in wässrigen Lösungen von L-1695<sup>R</sup>.

Der Schnittpunkt der Geraden  $\alpha$  und  $\beta$  in Abbildung 29 kann als der mittels Lichtstremessung ermittelte CMC-Bereich bezeichnet werden. Er lag bei 0,01 % und stimmte mit der mittels Oberflächenspannungsmessung nach DU NOUY bestimmten CMC überein (Abschn. E. 7.2.). Die Abweichung der Streuintensitätswerte zwischen 0,01 und 0,2 % Tensid von der Geraden  $\alpha$  wurde auf das Ausfallen der Di-, Tri- und Polyesteranteile in L-1695<sup>R</sup> zurückgeführt. Die Trübung der Lösung von L-1695<sup>R</sup> in diesem Konzentrationsbereich wurde im Abschn. E. 7.2. erläutert.

#### 16.2.2. CMC der Solubilisatlösung

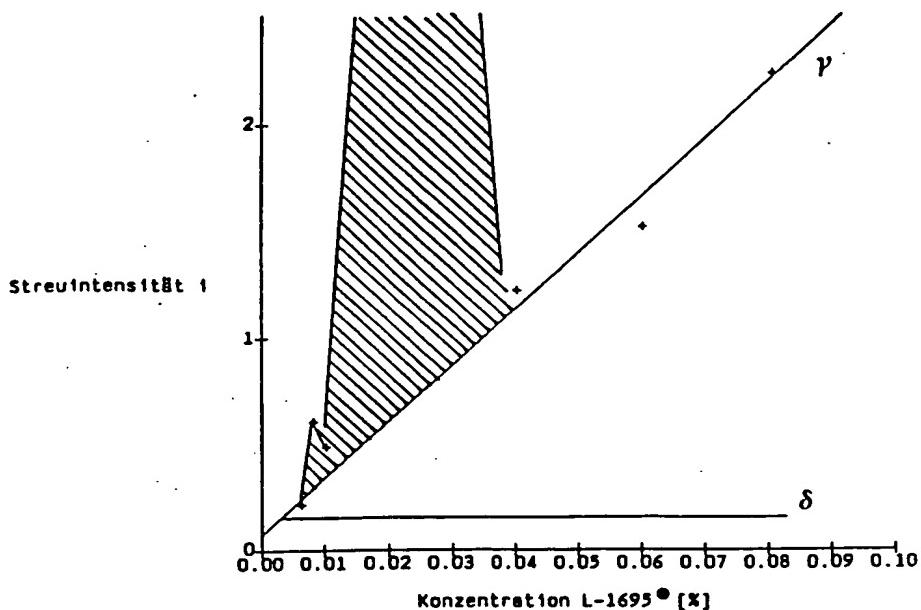
Mittels statischer Lichtstremessung wurde die Streuintensität von Ciclosporin in Lösungen von L-1695<sup>R</sup>, solubilisiert im Verhältnis 100 Teile L-1695<sup>R</sup> zu 14 Teilen Ciclosporin, bestimmt.

**Tabelle 50:**

Statische Lichtstreumessung der Solubilisatlösung Ciclosporin in L-1695<sup>R</sup>. Die Werte sind in der Abbildung 30 dargestellt.

Konzentration L-1695 <sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung [%]	Konzentration an Ciclosporin [mg/ml]	i
1	1.4	28.79
0.8	1.12	25.25
0.6	0.84	19.28
0.4	0.56	12.37
0.2	0.28	5.39
0.1	0.14	2.75
0.08	0.112	2.23
0.06	0.084	1.53
0.04	0.056	1.23
0.02	0.028	38.65
0.01	0.014	0.49
0.008	0.011	0.61
0.006	0.008	0.22
0.004	0.006	0.15
0.002	0.003	0.12
0	0	0.09

Die Werte der Tabelle 50 zeigten im Bereich 0,04 bis 1 % Tensid gute Linearität, was in Abbildung 28 die Gerade  $\gamma$  ergab. Die drei niedrigsten Streuintensitätswerte der Tabelle 50 verhielten sich linear und waren auf die Lösungsmittelstreuung zurückzuführen. Sie ergaben in der Abbildung 30 die Gerade  $\delta$ .

**Abbildung 30:**

Streuintensität  $i$  in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration in wässrigen Solubilisatlösungen von Ciclosporin in L-1695<sup>R</sup>.

Die Streuintensität der Solubilisatlösung bei 0,02 % Tensid wlich deutlich von der Geraden  $\gamma$  ab. Dies ist in der Abbildung 30 schraffiert dargestellt. In diesem Konzentrationsbereich war die Solubilisatlösung trübe. Ob dies auf einen Ausfall von Ciclosporin oder von den Polyestern im L-1695<sup>R</sup> zurückzuführen war, konnte nicht ermittelt werden. Auch hier liess sich der Bereich der CMC der Solubilisatlösung durch den Schnittpunkt der beiden Geraden  $\gamma$  und  $\delta$  in Abbildung 30 ermitteln. Die CMC lag bei 0,005 % (Abschn. E. 7.3. und E. 7.4.). Die Lichtstremessung eignete sich zur Bestimmung der CMC sowohl der Tensidlösung als auch der Solubilisatlösung mit L-1695<sup>R</sup> und Ciclosporin. Erschwert wurde die Auswertung dieser Versuche infolge Trübung der Probelösungen im Bereich der CMC.

### 16.3. Einfluss des Solubilisates auf die Mizellgrösse

Ein Vergleich der Streuintensitäten der Tensid- (Tabelle 49) und Solubilisatlösungen (Tabelle 50) im Bereich 0,2 bis 1 % Tensid ergab für die Solubilisatlösungen höhere Streuintensitätswerte (Abbildung 28), woraus geschlossen werden konnte, dass die Mizellen durch den Einschluss von Ciclosporin gewachsen sind. Mittels dynamischer Lichtstremessung wurde der hydrodynamische Radius RH der Mizellen in Lösungen von L-1695<sup>R</sup> und Solubilisatlösungen mit Ciclosporin bestimmt:

Tabelle 51:

Dynamische Lichtstreumessung der Tensidlösung L-1695<sup>R</sup>.

Konzentration L-1695 <sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung [%]	D [cm <sup>2</sup> /sec]	RH [Å]
0,1	4,61	46,4
0,2	4,74	45,1
0,4	4,61	46,5
0,6	4,52	47,4
0,8	4,39	48,8
1,0	4,33	49,4
2,0	3,65	58,5
4,0	3,60	59,1
6,0	3,35	64,1
8,0	3,10	69,4
10,0	3,05	70,3

D = Diffusionskoeffizient

RH = hydrodynamische Radius

Tabelle 52:

Dynamische Lichtstreumessung der Solubilisatlösung Ciclosporin in L-1695<sup>R</sup>.

Konzentration L-1695 <sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung [%]	D [cm <sup>2</sup> /sec]	RH [Å]
0,1	3,78	56,6
0,2	3,70	57,8
0,4	3,36	63,7
0,6	3,18	67,3
0,8	3,01	71,2
1,0	3,00	71,4
2,0	2,61	81,9
4,0	2,20	97,1
6,0	2,00	106,6
8,0	1,96	109,2
10,0	1,97	108,4

D = Diffusionskoeffizient

RH = hydrodynamische Radius

Aus dem Vergleich der Werte der Tabellen 51 und 52 ging hervor, dass die hydrodynamischen Radien der Mizellen in den Solubilisatlösungen grösser sind als in den Tensidlösungen gleicher Konzentration. Mittels dynamischer Lichtstreumessung konnten die Mizellgrössen bestimmt werden (Abschn. D. 3.3.4.). Den Verlauf der Abnahme der Diffusionskoeffizienten in den Tensid- und Solubilisatlösungen steigender Tensidkonzentration zeigt Abbildung 31. Daraus ging hervor, dass in der Tensidlösung L-1695<sup>R</sup> im Bereich 2 % der Knickpunkt einen Wechsel in der Mizellgröße anzeigen. Die Mizellgröße blieb zwischen 2 und 10 % Tensid unverändert.

Im Gegensatz zur reinen Tensidlösung war bei der Solubilisatlösung kein Knickpunkt feststellbar. Vielmehr zeichnete sich ein schleichender Wechsel der Mizellgröße zwischen 1 und 3 % Tensid ab. Das Solubilisat beeinflusst nicht nur die Mizellgröße, sondern auch ihren Wechsel bei zunehmender Tensidkonzentration.

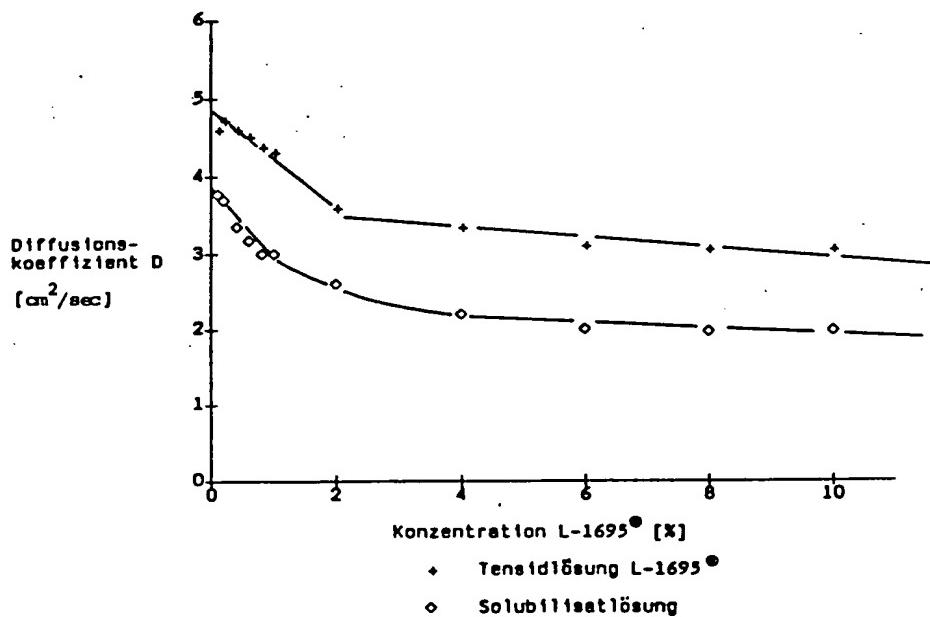


Abbildung 31:

Verlauf der Abnahme der Diffusionskoeffizienten in den Tensid- und Solubilisatlösungen bei steigender Konzentration an L-1695<sup>R</sup>. Werte aus den Tabellen 51 und 52.

#### 16.4. Diskussion

Mittels Lichtstreumessungen konnte ein Einfluss von Ciclosporin auf die Mizellgröße nachgewiesen werden. Der Knickpunkt, der in Abbildung 31 für die Tensidlösung bei 2 % Tensid festgestellt wurde, liess den Schluss auf einen Wechsel in der Mizellform nicht zu. Es konnte davon ausgegangen werden, dass ein Wechsel der Mizellform mit einer deutlichen Änderung der Viskosität einhergeht (Abschn. E. 12.4.6.) und sich durch ein verändertes Solubilisierkapazität

129

zitätsverhalten anzeigt [175]. Bei Saccharosemon laurat L-1695<sup>R</sup> wurde ab CMC bis 10 % veder im Viskositätsverhalten (Abschn. E. 13.4.) n ch in der Solubilisierkapazitätszunahme (Abschn. E. 12.3.1.) eine Unstetigkeit festgestellt. Aufgrund der hier ermittelten Daten konnte auf keine bestimmte Mizellform geschlossen werden.

### **17. Feste mizellare Lösungen**

Die meisten wasserlöslichen Tenside weisen bei Raumtemperatur flüssige oder halbfeste Konsistenz auf. Sie eignen sich daher vorwiegend für den Einsatz in flüssigen Arzneiformen. Die wasserlöslichen Saccharose- und Raffinosemonoester haben den Vorteil, bei Raumtemperatur fest zu sein. Als pulverförmige Solubilisatoren wurden sie als geeignet erachtet, zu einer festen Arzneiform verarbeitet zu werden. Dabei kommt ein solubilisierender Effekt im Verlaufe der Auflösung von Problemarzneistoffen durch die zwei folgenden Faktoren zustande:

- Grenzflächenaktivität des verwendeten Hilfsstoffes.
- Bildung von löslichen Assoziaten zwischen Arzneistoff und Hilfsstoff.

Ziel der Untersuchungen war es, das in Wasser schwerlösliche Ciclosporin und den leichtlöslichen Hilfsstoff, hier einen Zuckerester, so zu kombinieren, dass der Arzneistoff in einer Hilfsstoffmatrix eingebettet wasserlöslich wurde.

#### **17.1. Definition**

In Analogie zu einer Lösung besteht eine feste Lösung aus einem festen zu lösenden Stoff und einem festen Lösungsmittel [17] [247]. Durch eine feste Lösung eines schwerlöslichen Arzneistoffes in einem gut löslichen Träger löst sich der Arzneistoff schneller auf, weil die Partikelgrösse der Substanz bereits im festen Zustand bis zur Molekülgrösse reduziert ist. In einer festen mizellaren Lösung wird zusätzlich zu dieser maximalen Teilchengrösse reduktion der Effekt der Solubilisation wirksam. Eine feste Lösung, in der der feste Hilfsstoff ein wasserlöslicher Solubilisator ist, wird feste mizellare Lösung genannt.

#### **17.2 Herstellung**

##### **17.2.1. Auflösungsverfahren**

Eine physikalische Mischung fester Stoffe, welche traditionell auf rein mechanischem Wege erhalten wurde, wird durch diese Definition ausgeschlossen. Um den hohen Verteilungsgrad des Arzneistoffes in der Hilfsstoffmatrix zu erreichen, wurden Ciclosporin und der Zuckerester in Ethanol gelöst und das Lösungsmittel mittels Destillation entfernt. Der Rückstand liess sich leicht zu einem feinen Pulver verarbeiten, dem zusätzlich Hilfsstoffe wie z.B. Gleit-

der Schmiermittel beigemischt werden können. Eine feste Mizellare Lösung konnte auch in Form eines Lyophilisates hergestellt werden. In einer wässrigen Zuckeresterlösung wurde das Ciclosporin solubilisiert und mittels Gefriertrocknung das Wasser entzogen.

#### 17.2.2. Röntgenstrukturanalyse

Eine nach dem Auflösungsverfahren mit Ethanol hergestellte feste Mizellare Lösung wurde mittels Röntgenstrukturanalyse nach Guinier-de Wolff (Strahlung: Cu K  $\alpha$ ) [248] untersucht. Das Röntgendiagramm zeigte, dass das Ciclosporin und der Zuckerester vollständig amorph vorlagen, was auf eine echte feste Lösung hinweist [249]. Im Diagramm der festen Mizellaren Lösung befanden sich keine Linien [250]. Mit Hilfe der festen Mizellaren Lösung konnten sowohl die Löslichkeit als auch die Lösungsgeschwindigkeit von Ciclosporin verbessert werden. Zusätzlich zur Reduktion der Partikelgrösse konnte dies auf die Änderung des strukturellen Zustandes von Ciclosporin in die besser wasserlösliche amorphe Struktur [251] zurückgeführt werden.

#### 17.3. Galenische Form zur Bioverfügbarkeitsverbesserung

Wegen der verbesserten Löslichkeit von Ciclosporin nach Zugabe von Wasser zur festen Mizellaren Lösung konnte erhofft werden, dass der Arzneistoff in vivo vollständiger absorbiert wird und daraus eine verbesserte Bioverfügbarkeit resultiert (Abschn. D. 3.12.). Dies wurde an Ratten mit radioaktiv markiertem Ciclosporin überprüft. Es wurde das [ $^3\text{H}$ ] Aminobuttersäure Ciclosporin A (Abu [ $^3\text{H}$ ] Ciclosporin), das Präparat RA 608, benutzt.

Folgende Formulierungen wurden hergestellt und verglichen:

- (A) 3 mg Abu [ $^3\text{H}$ ] Ciclosporin wurden in 0,5 ml isotoner Kochsalzlösung suspendiert.
- (B) 3 mg Abu [ $^3\text{H}$ ] Ciclosporin wurden zu 13,5 mg Placebo der Sandimmun<sup>R</sup> Trinklösung (Abschn. H. 2.1.1.) gegeben und in 0,5 ml isotoner Kochsalzlösung emulgiert.
- (C) 3 mg Abu [ $^3\text{H}$ ] Ciclosporin wurden zusammen mit 27 mg Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> in Ethanol gelöst, das Lösungsmittel abgedampft und die feste Mizellare Lösung in 0,5 ml isotoner Kochsalzlösung gelöst.

Diese drei Formulierungen wurden an je 4 Ratten peroral appliziert. Die Versuche wurden in der Gruppe Biopharmaziektik der Abteilung Drug Delivery Systems der SANDOZ durchgeführt. Tabelle 53 zeigt die Bioverfügbarkeitswerte relativ zur Sandimmun<sup>R</sup> Trinklösung (Formulierung B).

Tabelle 33.

Relative Bioverfügbarkeit von Ciclosporin nach peroraler Applikation in verschiedenen Formulierungen an je 4 Ratten. Die Werte wurden aus den Radioaktivitätsblutspiegeln berechnet.

Formulierung	Relative Bioverfügbarkeit [%]
A	58,5
B	100,0
C	126,0

Als Solubilisatlösung mit Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> zeigt Ciclosporin eine deutlich verbesserte Bioverfügbarkeit gegenüber dem Handelspräparat Sandimmun<sup>R</sup> Trinklösung.

#### 17.4. Diskussion

Schwer wasserlösliche Wirkstoffe können, insbesondere bei peroraler Applikation, einen Bioverfügbarkeitsverlust erleiden, weil sie sich im wässrigen Medium des Gastrointestinaltraktes nicht rasch genug lösen und so teilweise ungelöst den Körper verlassen. Es ist schwierig, wasserlösliche Hilfsstoffe zu finden, welche den Wirkstoff nach Zufügen von Wasser in genügendem Ausmass vollständig lösen und bei jeglichem Verdünnungsgrad über längere Zeit in Lösung behalten. Auch sollten sie aus toxikologischen Gesichtspunkten akzeptabel sein. Besonders bei in Wasser schlechtlöslichen Polypeptiden wie den Ciclosporinen hat man lange vergebens nach peroral applizierbaren löslichen galenischen Formen, welche auch in pharmazeutischer und medizinischer Hinsicht befriedigend sind, gesucht. In der bestehenden Handelsform Sandimmun<sup>R</sup> Trinklösung ist der Hilfsstoff Olivenöl im Geschmack sehr unbefriedigend. Es wurde nun überraschend gefunden, dass sich die in pharmazeutischer und toxikologischer Hinsicht einwandfreien wasserlöslichen Monoester aus gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren und Saccharose oder Raffinose ausgezeichnet als Lösungsvermittler für Ciclosporin eignen und mit dem Wirkstoff feste mizellare Lösungen bilden. Diese Monoester können den Wirkstoff in befriedigendem Ausmass lösen. Durch Zufügen von Wasser entsteht eine mizellare Wirkstofflösung, welche direkt bioverfügbar ist. Der Wirkstoff liegt in der klaren kolloidalen Lösung vollständig solubilisiert vor. Unter Verwendung zusätzlicher Hilfsstoffe lässt sich die feste mizellare Lösung in Kapseln, Pellets, Granulate, Tabletten oder Trockenampullen verarbeiten. Die perorale Applikation der geschmacklosen festen mizellaren Lösung erhöht die Patientencompliance.

## 18. Ausfall von Ciclosporin

### 18.1. Ausfall von Ciclosporin aus Tensidlösungen

Beim Versuch, eine Solubilisatlösung von Ciclosporin in L-1695<sup>R</sup> zu autoklavieren, fiel auf, dass in der auf Raumtemperatur abgekühlten Lösung eine leichte Trübung durch ungelöstes Ciclosporin bestehen blieb. Dasselbe Phänomen liess sich auch bei der Bestimmung der Solubilisierkapazität von L-1695<sup>R</sup> für Ciclosporin bei erhöhten Temperaturen (Abschn. E. 12.4.1.) beobachten. Das nach Autoklavbehandlung bei 121°C während 20 Minuten aus einer Saccharosemonolauratlösung ausgefallene Ciclosporin wurde durch Zentrifugieren abgetrennt. Aus 1000 ml einer 10 %igen L-1695<sup>R</sup>-Lösung mit 16 mg Ciclosporin pro ml liessen sich so 125 mg Ciclosporin gewinnen, entsprechend 0,78 % der anfangs vollständig solubilisierten Menge. Um abzuklären, ob dieses Phänomen nur bei Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> als Solubilisator für Ciclosporin zu beobachten war, wurden Solubilisatlösungen mit anderen Solubilisatoren autoklaviert:

**Tabelle 54:**

Zur Untersuchung von Ciclosporinausfall nach Autoklavbehandlung verwendete Solubilisatlösungen.

Solubilisator	Menge an solubilisiertem Ciclosporin in der 10 %igen Solubilisatorlösung	Entsprechend der Solubilisierkapazität von
Natriumoleat	69 mg/ml	Tabelle 34
Natriumlaurylsulfat	95 mg/ml	Tabelle 34
Benzalkoniumchlorid	26 mg/ml	Tabelle 35
Cremophor <sup>R</sup> EL	8,5 mg/ml	Tabelle 31

Nach Autoklavieren blieb in den Solubilisatlösungen von Natriumoleat, Natriumlaurylsulfat und Benzalkoniumchlorid eine Trübung bestehen. Die Solubilisatlösung mit Cremophor<sup>R</sup> EL war nach Abkühlen völlig klar, wie schon im Abschn. E. 12.4.1. festgestellt. Auch aus einer Solubilisatlösung mit Cremophor<sup>R</sup> EL fiel Ciclosporin aus, allerdings nicht nach Autoklavbehandlung, sondern bei Stehenlassen einer mit 0,9 %iger NaCl-Lösung gebrauchsfertig verdünnten Sandimmun<sup>R</sup> Infusionskonzentratlösung nach etwa 7 Tagen.

### 18.2.1. Autoklavieren

Eine Solubilisat-Lösung von Ciclosporin in einer Zuckesterlösung muss steril sein, wenn sie intravenös appliziert werden soll. Als sicherste, aber auch einfachste Methode der antimikrobiellen Behandlung bietet sich das Autoklavieren bei 121°C während 20 Minuten an. Eine 5 %ige Lösung von L-1695<sup>R</sup> liess sich nach dieser Autoklavmethode behandeln, ohne dass das Zuckertensid caramelisierte. Die Autoklavbehandlung einer Zuckesterlösung mit Ciclosporin als Solubilisat war nicht möglich. Bei dieser Hitzebehandlung zerfielen die Mizellen reversibel, wobei Ciclosporin zu einem geringen Anteil ausfiel und nicht mehr solubilisiert wurde. Solubilisatlösungen von Ciclosporin in Saccharosemonolaurat können deshalb nicht durch Hitze antimikrobiell behandelt werden.

### 18.2.2. Stabilität

Die Mizellen sind keine starren Gebilde und stellen keinen absoluten Schutz für ein in ihnen gelöstes Solubilisat dar (Abschn. D. 3.7.3.). Es besteht die Möglichkeit, dass das Solubilisat unter besonderen Bedingungen und insbesondere während der Lagerung in irgendeiner Form aus der Tensidlösung ausfällt [247].

Bei einer mit 0,9 %iger NaCl-Lösung zur Applikation am Mensch gebrauchsfertig verdünnten Sandimmun<sup>R</sup> Infusionskonzentratlösung mit 0,5 mg Ciclosporin pro ml wurde nach Lagerung bei Raumtemperatur während 7 Tagen ein Ausfall von Ciclosporin festgestellt (Abschn. E. 18.1.). Dem Umstand, dass Ciclosporin aus dem gebrauchsfertig verdünnten Sandimmun<sup>R</sup> Infusionskonzentrat ausfällt, trägt die Firma SANDOZ Rechnung durch einen entsprechenden Vermerk auf dem Beipackzettel: "Die verdünnte Lösung bleibt während 12 Stunden physikalisch und chemisch unverändert". Eine entsprechende Formulierung mit Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> als Solubilisator, hergestellt durch Auflösen einer nach Abschn. E. 17.2.1. hergestellten festen mizellaren Lösung, zeigte bei gleichen Lagerbedingungen selbst nach 4 Monaten keine Anzeichen von ausgefallenem Ciclosporin.

### 18.3. Antimikrobielle Behandlung von Solubilisatlösungen mit Ciclosporin und Saccharosemonolaurat

Für eine Formulierung von Ciclosporin in einer Saccharosemonolauratlösung eignet sich die Hitzesterilisation nicht (Abschn. E. 18.2.1.). Bei der Herstellung einer festen mizellaren Lösung nach Abschn. E. 17.2.1. kann als antimikrobielle Behandlung eine Keimfiltration vorgenommen und das Lösungsmittel unter aseptischen Bedingungen abgedampft werden.

Aus einer durch Auflösen einer festen Mizellaren Lösung erhaltenen Solubilisatlösung fiel nach Autoklavieren ebenfalls Ciclosporin aus. Obwohl in der festen Mizellaren Lösung das Ciclosporin vollständig amorph vorlag (Abschn. E. 17.2.2.), fiel nach Hitzebehandlung schwerlösliches Ciclosporin aus. Die Autoklavierung eignet sich auch für wässrige Lösungen von festen Mizellaren Lösungen mit Ciclosporin nicht zur antimikrobiellen Behandlung.

• Abschließende Beurteilung

Im Rahmen der Dissertation stellten sich die Zuckerester als möglicher Ersatz für Ethylenoxidtenside in parenteral zu verabreichenden Formulierungen in den Vordergrund. Die wasserlöslichen Vertreter der Tensidklasse der Zuckerester erfüllen die an einen Solubilisator zur intravenösen Applikation gestellten Anforderungen am besten. Die im Kapitel C. 3. gestellten Anforderungen sollen hier mit den während der Dissertation gewonnenen Erkenntnissen über die Zuckerester Überprüft werden.

Eine intravenös zu applizierende Solubilisatlösung mit Ciclosporin und einem wasserlöslichen Zuckerester als Solubilisator erfüllt die folgenden Punkte:

**.. Physikalische Eigenschaften**

Eine zur Applikation gebrauchsfertig verdünnte Solubilisatlösung zeigt keine erhöhte Viskosität und kann ohne Schwierigkeiten mit einer feinen Nadel aufgezogen und injiziert werden. Zuckeresterlösungen zeigen Newtonsches Fließverhalten (Abschn. E. 13.4.). Gebrauchsfertig verdünnte Solubilisatlösungen müssen keimfiltriert werden (Abschn. E. 18.3.).

**.. Systemische Verträglichkeit**

Weder den Zuckerestern selbst noch ihren lipophilen und hydrophilen Teilen kommt eine pharmakologische Eigenwirkung zu.

**. Toxikologie**

Bei der intravenösen Applikation von Zuckerestern am Menschen lagen keine Untersuchungen vor (Abschn. E. 13.1.4.). Es muss Gegenstand weiterführenderorschungsarbeiten sein, durch ausgedehnte Toxstudien abzuklären, ob die Zuckerester ohne Nebenwirkungen vom Menschen intravenös vertragen werden. Ist dann gilt es, ein Solubilisatsystem *in vivo* zu prüfen.

**. Hämolyseaktivität**

*In vitro* zeigten die Zuckerester stärkere Hämolyseaktivität als Cremophor<sup>R</sup> EL (Abschn. E. 10.1.). Die Resultate der *in vitro*-Versuche konnten nur einen Anhaltspunkt vermitteln und lassen einen Schluss auf das Reaktionsvermögen *in vivo* nicht zu, da bei der Hämolyse keine Korrelation *in vitro/in vivo* besteht.

**. Bioverfügbarkeit**

*In vivo*-Versuche an der Ratte nach peroraler Applikation (Abschn. E. 17.3.) haben gezeigt, dass die Bioverfügbarkeit von Ciclosporin aus einer Zuckersterlösung im Vergleich zur Sandimmune<sup>R</sup> Trinklösung besser ist.

## 6. Solubilisierkapazität

Als Solubilisatoren für Ciclosporin zeigten alle untersuchten Zuckerester eine höhere Kapazität als Cremophor<sup>R</sup> EL (Abschn. E. 12.3.1.). Um dieselbe Menge an Ciclosporin zu solubilisieren, braucht man weniger Zuckerester als Cremophor<sup>R</sup> EL zuzugeben. Eine Solubilisatlösung mit Zuckerester braucht keine weiteren Hilfsstoffe wie Lösungsmittel oder Cosolubilisatoren, um Ciclosporin zu solubilisieren.

## 7. Biologisch abbaubar

Die Zuckerester geradkettiger aliphatischer Monocarbonsäuren sind biologisch vollständig abbaubar (Abschn. E. 13.1.1.).

## 8. Stabilität

Eine Solubilisatlösung mit Ciclosporin und Saccharosemonolaurat ist über längere Zeit stabil als eine analoge Solubilisatlösung mit Cremophor<sup>R</sup> EL als Solubilisator (Abschn. E. 18.2.2.). Eine Hydrolysekinetikstudie kann über das Stabilitätsverhalten der Zuckerester Auskunft geben [252].

## 9. Mischbarkeit

Eine Solubilisatlösung von Ciclosporin in einer Zuckeresterlösung kann in beliebigem Verhältnis mit Wasser verdünnt werden, ohne dass der Wirkstoff ausfällt (Abschn. E. 12.3.2.).

## 10. Chemische Verträglichkeit

Als einzige Inkompatibilität zwischen Zuckerestern und Ciclosporin stellte sich beim Autoklavieren der partielle Ausfall (Abschn. E. 18.1.) von Ciclosporin ein.

Mit den Untersuchungen der Einflussfaktoren der Tensidmolekülstrukturen auf die Wasserlöslichkeit (Abschn. E. 6.), die Hämolysaktivität (Abschn. E. 10.) und die Solubilisierkapazität (Abschn. E. 12.) konnten Entscheidungsgrundlagen erarbeitet werden, die die gezielte Auswahl des geeigneten Zuckeresters aus den Reihen der Saccharose- und Raffinosemonoester ermöglichen. So kann ein aus pharmazeutischen und medizinischen Gesichtspunkten optimales Solubilisatsystem zur intravenösen Applikation von Ciclosporin entworfen werden.

Als weitere zur Lösung des eingangs gestellten Problems (Kapitel C.) mögliche Tensidklasse kommen die Polyglycerinester in Frage. Ihre Solubilisierkapazität für Ciclosporin kann eventuell durch Verlängerung des lipophilen Tensidteiles ( $C > 12$ ) verbessert werden. Dies bedingt gleichzeitig einen höheren Polymerisationsgrad ( $n > 10$ ) der Polyglycerinkette, damit die Wasserlöslichkeit des

Tensids gewährleistet bleibt (Abschn. E. 14.3.). Offen bleibt hier die Frage der Ausscheidung der Polyglycerinkette aus dem menschlichen Körper (Abschn. E. 14.1.).

Primäre Alkoholgruppen im hydrophilen Tensidmolekülteil erwiesen sich als wirkungsvolle hydrophile Substituenten, um ein Tensid mit grossem lipophilem Rest wasserlöslich zu machen (Abschn. E. 6.3.1.) und schaffen Möglichkeiten für weitere gezielte Synthesen.

Die Seifen eignen sich nicht als Solubilisatoren zur intravenösen Applikation [3]. Bereits in tiefen Konzentrationen zeigen sie einen hohen pH-Wert. Als obersten zur intravenösen Applikation noch zulässigen Wert geben einige Pharmacopoeen ein pH von 8 an [193].

Kationische Tenside können nach Anschel [3] nur in beschränktem Maße in Injektionen Anwendung finden. Die quaternären Ammoniumverbindungen dieser Gruppe werden selten ihrer Netzwerkwirkung, aber vorwiegend ihrer keimtötenden Wirkung wegen als Konservierungsmittel in Injektionen und noch häufiger in ophthalmologischen Präparaten verwendet. Über die intravenöse Applikation von Acylcarnitininen lagen keine Untersuchungsergebnisse vor.

### G. Literaturverzeichnis

- [1] Amidon G.L.,  
in Techniques of Solubilization of Drugs, p. 183,  
Yalkowsky S.H., Marcel Dekker New York (1981).
- [2] Dröseler W. and Voigt R.,  
Pharmazie 22, 669 (1967).
- [3] Anschel J.,  
Pharm. Ind. 27, 781 (1965).
- [4] Spiegel A.J. and Noseworthy M.M.,  
J. Pharm. Sci. 52, 917 (1963).
- [5] Fiedler H.P.,  
Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und  
angrenzende Gebiete, Bd. I + II,  
Editio Cantor Aulendorf (1981).
- [6] Cavanak T. and Sucker H.,  
in Ciclosporin, p. 65,  
Borel J.F., Karger Verlag Basel (1986).
- [7] Bhargava H.N., Narurkar A. and Lieb L.M.,  
Pharm. Technol. 11, 46 (1987).
- [8] Seib K.,  
Seifen Öle Fette Wachse 101, 299 (1975).
- [9] Stache H.,  
Tensid-Taschenbuch, 2. Auflage,  
Carl Hanser Verlag München (1981).
- [10] Schelly Z.A.,  
Dynamics of Colloidal Systems,  
Vortrag bei Sandoz AG Basel (1986).
- [11] Friberg S.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 48, 578 (1971).
- [12] List P.H. and Kleinsorgen R.,  
Pharm. Verfahrenstechn. Heute 1, 1 (1980).
- [13] van Bloois L., Dekker D. and Crommelin J.A.,  
Acta Pharm. Technol. 33, 136 (1987).
- [14] Illum L.,  
Acta Pharm. Technol. 31, 53 (1985).
- [15] Steffen H.,  
Roche Mag. (20) 2 (1984).
- [16] Hess H.,  
Documenta Ciba-Geigy (9) 15 (1986).
- [17] Fahr F., Wenzel U., Kala H. and Diallo B.,  
Wiss. Ztg. Uni Halle 30, 67 (1984).
- [18] List M.,  
Diss. Uni Basel (1987).

- [19] Neudauer U.K.,  
Römpps Chemie-Lexikon, 8. Auflage, Bd. I-VI,  
Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart (1987).
- [20] Fromherz P.,  
Nachr. Chem. Techn. Lab. 29, 537 (1981).
- [21] Martin A.N., Swarbrick J. and Cammarata A.,  
Physikalische Pharmazie,  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (1980).
- [22] Attwood D. and Florence A.T.,  
Surfactant Systems, their Chemistry, Pharmacy and Biology,  
Chapman and Hall London (1983).
- [23] Harris J.C.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 35, 428 (1958).
- [24] Swarbrick J.,  
J. Pharm. Sci. 54, 1229 (1965).
- [25] Mulley B.A.,  
Adv. Pharm. Sci. 1, 87 (1964).
- [26] Rohdewald P.,  
Pharm. Ztg. 116, 673 (1971).
- [27] Wan S.C.,  
J. Coll. Int. Sci. 78, 401 (1980).
- [28] Schönfeldt N.,  
Grenzflächenaktive Aethylenoxid-Addukte,  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (1976).
- [29] Gerbacia W.E., Rosano H.L. and Zajac M.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 53, 101 (1976).
- [30] Steffen H. and Schmidt D.,  
Pat. DE 2730570 A1 (1978).
- [31] Schurtenberger P., Mazer N., Waldvogel S. and Känzig W.,  
Biochim. Biophys. Acta 775, 111 (1984).
- [32] Kellaway I.W. and Saunders L.,  
J. Pharm. Pharmac. 21S, 189S (1969).
- [33] Brauns U.,  
Acta Pharm. Technol. 32, 153 (1986).
- [34] Kedvessy G.,  
Mitt. Dtsch. Pharm. Ges. DDR 36, 137 (1966).
- [35] Nozawa Y., Higashide F. and Mizumoto T.,  
CA 106, 23269r (1987).
- [36] Hüttenrauch R., Kluczykowska B. and Króczynski L.,  
Pharmazie 27, 471 (1972).
- [37] Luck W.A.P.,  
Inform. APV 16, 127 (1970).

- [38] Münzel K., Büchi J. and Schultz O.,  
Galenisches Praktikum,  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (1959).
- [39] Kreutzkamp N.,  
Inform. APV 8, 1 (1962).
- [40] Hütte M.S., Schou Olesen A. and Stoffersen E.,  
Br. J. Anaesth. 52, 77 (1980).
- [41] Lorenz W., Schmal A., Schult H. et al.,  
Agents and Act. 12, 64 (1982).
- [42] Lorenz W.,  
Congr. Int. Ass. Pharm. Technol. Erlangen (1985).
- [43] Tadros B. and Leupin K.,  
Pharm. Acta Helv. 40, 407 (1965).
- [44] Morant J., Herausgeber,  
Arzneimittelkompendium der Schweiz 1987, Bd. I,  
Documed Basel (1987).
- [45] Simonis H.,  
Industrieabwässer (5) 31 (1963).
- [46] Elworthy P.H. and Macfarlane C.B.,  
J. Pharm. Pharmac. 17, 129 (1965).
- [47] Heusch R.,  
Tenside 21, 173 (1984).
- [48] Hsu W.P.,  
Diss. Abstr. Int. B 46, 3415 (1986).
- [49] Hüttenrauch R.,  
Acta Pharm. Technol. 30, 181 (1984).
- [50] Preston W.C.,  
J. Phys. Chem. 52, 84 (1948).
- [51] Chwala A.,  
Tenside 1, 41 (1964).
- [52] Gerhardt W. and Liebscher W.,  
Parfüm. Kosmet. 52, 33 (1971).
- [53] Janistyn H.,  
Taschenbuch der modernen Parfümerie und Kosmetik, 4. Auflage,  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (1974).
- [54] Desai N.B. and Lowicki N.,  
Parfüm. Kosmet. 64, 463 (1983).
- [55] Leong B.K.J., Ts'0 T.O.T. and Chenoweth M.B.,  
Toxic. Appl. Pharmac. 27, 342 (1974).
- [56] Spiegelhalder B., Eisenbrand G. and Preussmann R.,  
Angew. Chemie 90, 379 (1978).

- [57] Wishnok J.S.,  
J. Chem. Educ. 54, 440 (1977).
- [58] Schick M.J.,  
in Nonionic Surfactants, Surfactant Science Series,  
Volume 1, p. 971,  
Schick M.J., Marcel Dekker New York (1967).
- [59] Swisher R.D.,  
Surfactant Biodegradation, Surfactant Science Series,  
Volume 18, 2. Auflage,  
Marcel Dekker New York (1987).
- [60] Ismail R.M.,  
Seifen Öle Fette Wachse 91, 14 (1965).
- [61] Lange F.W. and Müller J.E.,  
Seifen Öle Fette Wachse 91, 237 (1965).
- [62] Kinsman D.V.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 56, 823A (1979).
- [63] Proserpio G.,  
Cosm. Perf. 89, 45 (1974).
- [64] Heusch R.,  
Inform. APV 18, 1 (1972).
- [65] Schmidt P.,  
Diss. Uni Hamburg (1970).
- [66] Hoffmann H.,  
Nachr. Chem. Techn. 24, 444 (1976).
- [67] Rehfeld S.J.,  
J. Coll. Int. Sci. 34, 518 (1970).
- [68] Chwala A.,  
Inform. APV 16, 199 (1970).
- [69] Eckert T., Jaenicke R. and Wachtel E.,  
Arzn. Forsch. 16, 1140 (1966).
- [70] Thoma K.,  
Pharm. Acta Helv. 56, 3 (1980).
- [71] Harada S. and Schelly Z.A.,  
J. Phys. Chem. 86, 2098 (1982).
- [72] Elworthy P.H. and Florence A.T.,  
Koll.-Z. Z. Polymer. 204, 105 (1965).
- [73] Ekwall P. and Holmberg P.,  
Acta Chem. Scand. 19, 573 (1965).
- [74] Rao I.V. and Ruckenstein E.,  
J. Coll. Int. Sci. 113, 375 (1986).

- [75] Mitchell A.G. and Wan L.S.C.,  
J. Pharm. Sci. 53, 1467 (1964).
- [76] Rösch M.,  
Fette Seifen Anstrichm. 62, 1045 (1960).
- [77] Müller-Goymann Ch.C.,  
Acta Pharm. Technol. 33, 126 (1987).
- [78] Mc Bain J.W.,  
Koll.-Ztg. 12, 256 (1913).
- [79] Corkill J.M. and Goodman J.F.,  
Adv. Coll. Int. Sci. 2, 297 (1969).
- [80] Lüdmann B. and Finkelmann H.,  
Coll. Polymer Sci. 264, 189 (1986).
- [81] Hutchinson E. and Shinoda K.,  
in Solvent Properties of Surfactant Solutions,  
Surfactant Science Series, Volume 2, p. 1,  
Shinoda K., Marcel Dekker New York (1967).
- [82] Vold M.J. and Vold R.D.,  
Colloid Chemistry,  
Reinhold Publishing Corp. New York (1964).
- [83] Robson R.J. and Dennis E.A.,  
J. Phys. Chem. 81, 1075 (1977).
- [84] Small D.M.,  
Adv. Chem. Ser. 84, 31 (1968).
- [85] Schmidt P. and Sucker H.,  
Z. Anal. Chem. 250, 384 (1970).
- [86] Seiller M., Langlois C. and Puisieux F.,  
Prod. Probl. Pharm. 26, 106 (1971).
- [87] Fujimatsu H., Takagi K., Matsuda H. and Kuroiwa S.,  
J. Coll. Int. Sci. 94, 237 (1983).
- [88] Phillips J.N. and Mysels K.J.,  
J. Phys. Chem. 59, 325 (1955).
- [89] Bantle S.,  
Light Scattering Investigations of Amphiphilic Molecules,  
Interner Bericht, Sandoz AG Basel (1986).
- [90] Anacker E.W., Rush R.M. and Johnson J.S.,  
J. Phys. Chem. 68, 81 (1964).
- [91] Elworthy P.H.,  
J. Pharm. Pharmac. 12, 260T (1960).
- [92] Schott H.,  
J. Phys. Chem. 70, 2966 (1966).
- [93] Schott H.,  
J. Phys. Chem. 71, 3611 (1967).

- [94] Corby R.C.,  
J. Pharm. Pharmac. 23 S, 49S (1971).
- [95] Fontell K.,  
in Surface Chemistry, p. 252,  
Ekwall P., Groth K. and Rünström V.,  
Academic Press New York (1965).
- [96] Miller W.G.,  
Ann. Rev. Phys. Chem. 29, 519 (1978).
- [97] Jeffrey G.A.,  
Acc. Chem. Res. 19, 168 (1986).
- [98] Merrill R.C. and Mc Bain J. W.,  
J. Phys. Chem. 46, 10 (1942).
- [99] Mukerjee P.,  
J. Pharm. Sci. 60, 1531 (1971).
- [100] Bean H.S.,  
Pharm. Acta Helv. 35, 512 (1960).
- [101] Shaeiwitz J.A., Chan A.F., Cussler E.L. and Evans D.F.,  
J. Coll. Int. Sci. 84, 47 (1981).
- [102] Klevens H.B.,  
Chem. Rev. 47, 1 (1950).
- [103] O'Malley W.J., Pennati L. and Martin A.N.,  
J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 47, 334 (1958).
- [104] Riegelman S., Allawala N.A., Brenoff M.K. and Strait L.A.,  
J. Coll. Sci. 13, 208 (1958).
- [105] Mukerjee P.,  
J. Pharm. Sci. 60, 1528 (1971).
- [106] Müller K.,  
Tenside 3, 37 (1966).
- [107] Ullmann E., Thoma K. and Rombach R.,  
Pharmazie 22, 700 (1967).
- [108] Tokiwa F.,  
J. Phys. Chem. 72, 1214 (1968).
- [109] Mukerjee P. and Cardinal J.R.,  
J. Phys. Chem. 82, 1620 (1978).
- [110] Waggoner A.S., Griffith O.H. and Christensen C.R.,  
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 57, 1198 (1967).
- [111] Riegelman S.,  
J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 49, 339 (1960).
- [112] Hüttenrauch R. and Klotz L.,  
Arch. Pharm. 296, 145 (1963).

- [113] Nowak G.A.,  
Parfüm. Kosmet. 50, 134 (1969).
- [114] Elworthy P.H., Florence A.T. and Macfarlane C.B.,  
Solubilization by Surface Active Agents,  
Chapman and Hall London (1968).
- [115] Yusef R.T., Ghobashy A.A. and Khawam M.N.,  
Sci. Pharm. 34, 185 (1966).
- [116] Englisch G. and Schwarz H.,  
Pharm. Ind. 38, 381 (1976).
- [117] Englisch G.,  
Pharm. Ind. 39, 911 (1977).
- [118] Nakagawa T.,  
in Nonionic Surfactants, Surfactant Science Series,  
Volume 1, p. 558,  
Schick M.J., Marcel Dekker New York (1967).
- [119] Nakagawa T. and Muneyuki R.,  
Yakugaku Zasshi 74, 858 (1954).
- [120] Becher P. and Clifton N.K.,  
J. Coll. Sci. 14, 519 (1959)
- [121] Corkill J.M., Goodman J.F. and Ottewill R.H.,  
Trans. Farad. Soc. 57, 1627 (1961).
- [122] Keipert S., Becher J., Schultze H.H. and Voigt R.,  
Pharmazie 28, 145 (1973)
- [123] Plucinski P.,  
Tenside 22, 18 (1985).
- [124] Münz K.,  
Dtsch. Apot. Ztg. 107, 1261, 1312, 1359, 1473 (1967).
- [125] Florence A.T.,  
in Techniques of Solubilization of Drugs, p. 15,  
Yalkowsky S.H., Marcel Dekker New York (1981).
- [126] Kakemi K., Arita T., Sezaki H. and Sugimoto I.,  
J. Pharm. Soc. Japan 84, 1210 (1964).
- [127] Kim K.H. and Jarowski Ch.I.,  
J. Pharm. Sci. 66, 1536 (1977).
- [128] Fix J.A., Engle K., Porter P.A., Leppert P.S., Selk S.J.,  
Gardner C.R. and Inter J.A.,  
Amer. J. Physiol. 251, G332 (1986).
- [129] Griffin W.C.,  
J. Soc. Cosm. Chem. 1, 311 (1949).
- [130] Scheller H.,  
Parfüm. Kosmet. 41, 85 (1960).

- [131] Rahm H.,  
Diss. ETH Zürich (1966).
- [132] Greenwald H.L., Brown G.L. and Fineman M.N.,  
Analytic. Chem. 28, 1693 (1956).
- [133] Moore C.D. and Bell M.,  
Soap Perf. C sm. 29, 893 (1956).
- [134] Chun A.H.C. and Martin A.N.,  
J. Pharm. Sci. 50, 732 (1961).
- [135] Griffin W.C.,  
J. Soc. Cosm. Chem. 5, 249 (1954).
- [136] Davies J.T.,  
Proc. 2nd Int. Congr. of Surface Activity, CT I 430,  
London (1957).
- [137] Marszall L.,  
Acta Pharm. Technol. 27, 137 (1981).
- [138] Robbers J.E. and Bhatia V.N.,  
J. Pharm. Sci. 50, 708 (1961).
- [139] Middleton J.J.,  
J. Soc. Cosm. Chem. 19, 129 (1968).
- [140] Marszall L.,  
Cosm. Perf. 90, 37 (1975).
- [141] Nakagawa T. and Nakata J.,  
J. Chem. Soc. Japan - Ind. Chem. Sect. 59, 1154 (1956).
- [142] Scotney J. and Truter E.V.,  
J. Soc. Cosm. Chem. 22, 201 (1971).
- [143] Harva O., Kivalo P. and Keltakallio A.,  
CA 53, 18592 (1959).
- [144] Becher P. and Birkmeier R.L.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 41, 169 (1964).
- [145] Petrowski G.E. and Vanatta J.R.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 50, 284 (1973).
- [146] Olano A. and Martinez I.,  
Tenside 12, 334 (1975).
- [147] Zakrzewski Z., Pietura A. and Kietlinska-Zaleska E.,  
Acta Pol. Pharm. 36, 367 (1979).
- [148] Mima H.,  
J. Pharm. Soc. Japan 78, 988 (1958).
- [149] Shinoda K.,  
in Solvent Properties of Surfactant Solutions, p. 27,  
Shinoda K., Marcel Dekker New York (1967).

- [150] Lambert J.M. and Busse W.F.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 26, 289 (1949).
- [151] Ringsdorf H.,  
J. Polymer Sci., Symposium 51, 135 (1975).
- [152] Gerhardt W. and Liebscher W.,  
Parfüm. Kosmet. 51, 407 (1970)
- [153] Ismail R.M.,  
Vortrag anl. 1. Welt-Fett-Kongress Hamburg, Sekt. V, p. 277,  
Aschendorffsche Verlagsbuchhandlung Münster (1964).
- [154] Walkinshaw M.D.,  
A New Computer Tool for the Visualisation and Characterisation  
of Molecular Recognition Surfaces,  
Interner Bericht, Sandoz AG Basel (1986).
- [155] Gerhardt W. and Liebscher W.,  
Parfüm. Kosmet. 51, 367 (1970).
- [156] Ames G.R.,  
Chem. Rev. 60, 541 (1960).
- [157] Osipow L.,  
J. Soc. Cosm. Chem. 7, 249 (1956).
- [158] Manneck H.,  
Moderne Wasch- und Reinigungsmittel, Bd. V/2, p. 13,  
Moser Verlag Garmisch-Partenkirchen (1962).
- [159] Hopkins H. and Small V.D.,  
J. Amer. Pharm. Assoc. 49, 220 (1960).
- [160] Markley K.S.,  
Fatty Acids, Part 2, p. 826,  
Interscience Publishers Inc. New York (1961)
- [161] Babayan V.K., Kaufman T.G., Lehman H. and Tkaczuk R.J.,  
J. Soc. Cosm. Chem. 15, 473 (1964).
- [162] Neissner R.,  
Fette Seifen Anstrichm. 82, 93 (1980).
- [163] Kucera J. and Mandak M.,  
Acta Fac. Pharm. Uni Comenianae 32, 33 (1978).
- [164] Kowata Y., Nozawa A., Yamada M., Shimizu K., Mori M.  
and Tabata Y.,  
CA 100, 197638b (1984).
- [165] Garti N., Aserin A. and Zaidman B.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 58, 878 (1981).
- [166] Käbisch G., Malitius H., Raupach S., Trube R. and Wittmann H.,  
Pat. EP 25940 (1981).

- [167] Ranny H.,  
Präp. Pharm. 4, 145 (1968).
- [168] Gerhardt W. and Liebscher W.,  
Parfüm. Kosmet. 52, 1 (1971).
- [169] Reinefeld E. and Klaudianos S.,  
Zucker 21, 330 (1968).
- [170] Kaufman V.R. and Garti N.,  
J. Liq. Chrom. 4, 1195 (1981).
- [171] Product Information: Analysis of Ester Composition of Sugar  
Ester by High Pressure Liquid Chromatography,  
Mitsubishi-Kasei Food Corporation Tokyo (1987).
- [172] Ismail R.M. and Simonis H.,  
Fette Seifen Anstrichm. 66, 214 (1964).
- [173] Ismail R.M. and Simonis H.,  
Angew. Chem. 75, 1102 (1963).
- [174] Simonis H. and Ismail R.M.,  
Angew. Chem. 75, 791 (1963).
- [175] Ozeki S. and Ikeda S.,  
J. Phys. Chem. 89, 5088 (1985).
- [176] Führer C. and Kilb E.,  
Inform. APV 9, 6 (1963).
- [177] Saski W. and Shah S.G.,  
J. Pharm. Sci. 54, 71 (1965).
- [178] Hartley G.S.,  
J. Chem. Soc. 60, 1968 (1938).
- [179] Goodhart F.W. and Martin A.N.,  
J. Pharm. Sci. 51, 50 (1962).
- [180] Analytical Profile Ciclosporin A,  
Interner Bericht AFE/AEWH, Sandoz AG Basel (1981).
- [181] Thakkar A.L. and Hall N.A.,  
J. Pharm. Sci. 56, 1121 (1967).
- [182] Chouli N.H.,  
Pharmazie 28, 376 (1973).
- [183] Greenwald H.L., Kice E.B., Kenly M. and Kelly J.,  
Anal. Chem. 33, 465 (1961).
- [184] Haky J.E. and Young A.M.,  
J. Liq. Chrom. 7, 675 (1984).
- [185] Garst J.E. and Wilson W.C.,  
J. Pharm. Sci. 73, 1616 (1984).
- [186] Caron J.C. and Shroot B.,  
J. Pharm. Sci. 73, 1703 (1984).

- [187] Bombaugh K.J., Levangie R.F., King R.N. and Abrahams L.,  
J. Chrom. Sci. 8, 657 (1970).
- [188] Bertsch H., Püschel F. and Ulsperger E.,  
Tenside 2, 397 (1965).
- [189] List P.H. and Hörrhammer L.,  
Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Bd. VIIA, 4. Auflage,  
Springer Verlag Berlin (1971).
- [190] Thoma K.,  
Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges. 300, 31 (1967).
- [191] Katalog pharmazeutischer Hilfsstoffe,  
Arbeitsgruppe der Ciba-Geigy, Hoffmann-La Roche und Sandoz  
Basel (1974).
- [192] Fievet Ch.J., Gigandet M.P. and Ansel H.C.,  
Amer. J. Hosp. Pharm. 28, 961 (1971).
- [193] Prohoroff F. and Beys B.,  
J. Pharm. Belg. 37, 422 (1982).
- [194] Ansel H.C. and Gigandet M.P.,  
Amer. J. Hosp. Pharm. 33, 1264 (1976).
- [195] Kommentar zur Ph.H.VI, p. 192,  
Verlag des Schweizerischen Apothekervereins Bern (1975).
- [196] Freudweiler R.,  
Pharm. Acta Helv. 39, 263 (1964).
- [197] Setnikar I. and Temelcou O.,  
J. Amer. Pharm. Ass., Sci. Ed. 48, 628 (1959).
- [198] Ponder E.,  
J. Gen. Physiol. 30, 15 (1946).
- [199] Surber Ch.,  
Diss. Uni Basel (1984).
- [200] Kato A., Ando K., Tamura G. and Arima K.,  
Cancer Res. 31, 501 (1971).
- [201] Böhme H. and Hartke K.,  
Europäisches Arzneibuch, Bd. I-III, Kommentarausgabe,  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (1978).
- [202] Mima H., Asahi Y. and Kanzawa T.,  
J. Pharm. Soc. Japan 77, 1201 (1957).
- [203] Mima H., Kato M. and Yotsuzuka M.,  
J. Pharm. Soc. Japan 81, 37 (1961).
- [204] Terehata K., Maruoka H. and Umeda S.,  
CA 66, 36352t (1967).
- [205] Putnam F.W.,  
Adv. Prot. Chem. 4, 79 (1948).

- [207] Thews G., Mutschler E. and Vaupel P.,  
Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen, p. 126,  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (1980).
- [208] Gulik T.,  
Biochim. Biophys. Acta 415, 1 (1975).
- [209] Jung F., Wendler J. and Wiegertshausen B.,  
Arch. Exper. Path. Pharm. 229, 281 (1956).
- [210] Wissenschaftliche Tabellen Geigy, Bd. II, 8. Auflage, p. 112,  
Ciba-Geigy Basel (1979).
- [211] Love L.H.,  
J. Cellular Comp. Physiol. 36, 133 (1950).
- [212] Nimmerfall F., Eichenberger J. and Jacomet U.,  
Untersuchungen zum Mechanismus der enteralen Resorption,  
Interner Bericht Sandoz AG Basel (1982).
- [213] Ellö I.,  
Mitt. Dtsch. Pharm. Ges. 34, 193 (1964).
- [214] Süss W., Hüttenrauch R. and Schmeiss U.,  
Pharmazie 24, 424 (1969).
- [215] Kolthoff I.M. and Stricks W.,  
J. Phys. Coll. Chem. 53, 424 (1949).
- [216] Moro M.E., Velazquez M.M., Cachaza J.M., Rodriguez L.J.,  
J. Pharm. Pharmac. 38, 294 (1986).
- [217] Mitchell A.G. and Brown K.F.,  
J. Pharm. Pharmac. 18, 115 (1966).
- [218] Hoffmann H. and Ulbricht W.,  
Tenside 24, 23 (1987).
- [219] Kolthoff I.M. and Stricks W.,  
J. Phys. Coll. Chem. 52, 915 (1948).
- [220] Gedeon H.,  
Acta Pharm. Technol. 31, 107 (1985).
- [221] Hüttenrauch R. and Fricke S.,  
Pharmazie 36, 575 (1981).
- [222] Gerhardt W. and Liebscher W.,  
Parfüm. Kosmet. 52, 97 (1971).
- [223] Suga H. and Yonetsu M.,  
CA 77, 154298e (1972).
- [224] Code of Federal Register 21, Part 172 E, 172.859, p. 84,  
U.S. Government Printing Office Washington (1986).

- [225] Nakada Y., Nakamichi Ch., Awata N. and Sugimoto I.,  
CA 107, 46306k (1987).
- [226] Takada K., Yoshimura H., Yoshikawa H., Muranishi S., Yasumara T.  
and Oka T.,  
Pharm. Res. 3, 48 (1986).
- [227] Schveisheimer W.,  
Riechstoffe und Aromen 7, 364 (1957).
- [228] Suga K.,  
CA 101, 116569a (1984).
- [229] Suga K.,  
CA 101, 97476z (1984).
- [230] Hass H.B.,  
Chemurg. Dig. 14, 10 (1955).
- [231] Research Report: Sucrose Ester Surfactants,  
Sugar Research Foundation New York (1961).
- [232] Product Information: Ryoto Sugar Esters,  
Mitsubishi Chemical Industries Ltd. Japan (1986).
- [233] Osipow L., Snell F.D., Marra D. and York W.C.,  
Soap Chem. Spec. 32, 47 (1956).
- [234] Babayan V.K., Kaunitz H. and Slanetz C.A.,  
J. Amer. Oil Chem. Soc. 41, 434 (1964).
- [235] Food Additives Series Nr. 5, p. 241,  
WHO Genf (1974).
- [236] Product Information: Polyglyceryl Fatty Acid Ester,  
Nikko Chemicals Co. Ltd. Tokyo (1987).
- [237] Code of Federal Register 21, Part 172 E, 172.854, p. 82,  
U.S. Government Printing Office Washington (1987).
- [238] Yamashita M., Takeuchi F., Kadota N., Asano Y. and Yamazaki N.,  
CA 107, 64673g (1987).
- [239] Ostertag H. and Wurziger J.,  
Drug Res. 15, 869 (1965).
- [240] Ota Y. and Yoneda N.,  
CA 106, 201734y (1987).
- [241] Taiho Pharmaceutical Co. Ltd. Japan,  
CA 101, 137025k (1984).
- [242] Taiho Pharmaceutical Co. Ltd. Japan,  
CA 98, 166907z (1983).
- [243] Garti N. and Aserin A.,  
J. Liq. Chrom. 4, 1173 (1981).
- [244] Colson R.,  
Soap Perf. Cosm. 145 (1962).

- [245] Proserpio G., Gatti S. and Proserpio C.,-  
Prodotto Chimico 16, 3 (1976).
- [246] Chalmers L.,  
Soap Perf. C sm. 50, 191 (1977).
- [247] Ford J.L.,  
Pharm. Acta Helv. 61, 69 (1986).
- [248] Beyer Ch. and Maasz J.,  
Pharm. in u. Zeit 16, 12 (1987).
- [249] Chiou W.L.,  
J. Pharm. Sci. 66, 989 (1977).
- [250] Maasz J. and Beyer Ch.,  
Pharm. Ind. 49, 385 (1987).
- [251] Hüttenrauch R.,  
Acta Pharm. Technol. Suppl. 6, 55 (1978).
- [252] Anderson R.A. and Polack A.E.,  
J. Pharm. Pharmac. 20, 249 (1968).
- [253] Analytical Profile Isradipine,  
Interner Bericht AFE/AEWH, Sandoz AG Basel (1982).

**H. Anhang****1. Tabellen****1.1. Hämolyseaktivität****1.1.1. Hämolyseaktivität verschiedener Tenside**

Zusammenstellung der Hämolyseaktivität verschiedener Tenside, bestimmt nach der Methode von Abschn. E. 9.2.2. Die auf ihre Hämolyseaktivität untersuchten Tenside folgen in der in den Tabellen 20 - 26 aufgeführten Reihenfolge.

I-XI: Polyethoxilierte Fettsäuren. Tabelle 20

XII-XV: Polyethoxilierte Sorbitanfettsäureester. Tabelle 21

XVI-XVII: Etheraddukte. Tabelle 22

XVIII-XXIII: Saccharosemonoester. Tabelle 23

XXIV-XXVI: Raffinosemonoester. Tabelle 24

XXVII-XXIX: Seifen. Tabelle 25

XXX-XXXIII: Polyglycerinester. Tabelle 26

Tensid		Konzentration in 0,9 %iger NaCl-Lösung	sof rt	Beurteilung nach			
				1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
I	Myrj <sup>R</sup> 49	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	++ + -	++ + -	++D ++ +	++D ++ +
II	Myrj <sup>R</sup> 52	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	- - -	+	++ + -	++ + -
III	Myrj <sup>R</sup> 53	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	- - -	+	++ + -	++ + -
IV	Solutol <sup>R</sup> HS 15	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	- - -	+	++ + -	++ + -
V	12-Hydroxi- stearinsäure + 18 EO	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	+	++ - -	+	++ + -	++ + -
VI	Cremophor <sup>R</sup> RH 40	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	- - -	-	++ - -	++ - -
VII	Cremophor <sup>R</sup> RH 60	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	- - -	-	- - -	++ - -
VIII	Ölsäure + 20 EO	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	+	++D ++ +	++D ++ +	++D ++ +	++D ++ +
IX	Ölsäure + 41 EO	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	+	++ + -	++ + -	+D + +	+D + -

Tensid		Konzentration in 0,9 %iger NaCl-Lösung	Beurteilung nach				
			sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
X	Ricinolsäure + 20 EO	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	+	+	+	+	+
XI	Cremophor <sup>R</sup> EL	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	-	-	+	+
XII	Tween <sup>R</sup> 20	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	+	++	++	++
XIII	Tween <sup>R</sup> 40	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	+	++	++	++
XIV	Tween <sup>R</sup> 60	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	+D	++D	++D	++D
XV	Tween <sup>R</sup> 80	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	+D	++D	++D	++D
XVI	Brij <sup>R</sup> 99	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	-	++D	++D	++D	++D
XVII	Polyethoxi- liertes Cho- lesterin (24 EO)	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	++	++	++	++	++
XVIII	Saccharosemo- nocaprat CEP	10 % 1 % 0,1 % 0,01 %	++	++D	++D	++D	++D

Tensid		Konzentration in 0,9 %iger NaCl-Lösung	sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
XIX	Saccharosemono-laurat L-1695 <sup>R</sup>	10 %	++	++	++D	++D	++D
		1 %	++	++	++	++D	++D
		0,1 %	++	++	++	++	++D
		0,01 %	-	+	+	+	+
XIXa	Saccharosemono-nolaurat CEP	10 %	++	++	++	++	++
		1 %	++	++	++	++	++
		0,1 %	++	++	++	++	++
		0,01 %	-	+	+	+	+
XX	Saccharosemono-nomyristat M-1695 <sup>R</sup>	10 %	++	++	++	++	++
		1 %	++	++	++	++	++
		0,1 %	++	++	++	++	++
		0,01 %	+	+	+	+	++
XXI	Saccharosemono-nopalmitat P-1670 <sup>R</sup>	10 %	++	++	++	++	++
		1 %	++	++	++	++	++
		0,1 %	++	++	++	++	++
		0,01 %	+	++	++	++	++
XXII	Saccharosemono-nostearat CEP	10 %	++	++D	++D	++D	++D
		1 %	++	++D	++D	++D	++D
		0,1 %	++	++	++	++	++
		0,01 %	++	++	++	++	++
XXIII	Saccharosemono-nooleat CEP	10 %	++	++D	++D	++D	++D
		1 %	++	++D	++D	++D	++D
		0,1 %	++	++D	++D	++D	++D
		0,01 %	+	+	++	++	++
XXIV	Raffinosemono-nocaprat CEP	10 %	-	++	++D	++D	++D
		1 %	-	+	++	++D	++D
		0,1 %	-	-	-	-	-
		0,01 %	-	-	-	-	-
XXV	Raffinosemono-nolaurat CEP	10 %	++	++D	++D	++D	++D
		1 %	++	++	++	++D	++D
		0,1 %	+	+	++	++	++
		0,01 %	-	-	-	-	-
XXVI	Raffinosemono-nooleat CEP	10 %	+	++D	++D	++D	++D
		1 %	+	++D	++D	++D	++D
		0,1 %	-	+	++	++	++
		0,01 %	-	+	+	+	+

Tensid		Konzentration in 0,9 %iger NaCl-Lösung	sofort	Beurteilung nach				
				1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	
XXVII	Natriumoleat	10 %	++D	++D	++D	++D	++D	++D
		1 %	++D	++D	++D	++D	++D	++D
		0,1 %	++D	++D	++D	++D	++D	++D
		0,01 %	++	++	++D	++D	++D	++D
XXVIII	Natriumricin- oleat	10 %	++D	++D	++D	++D	++D	++D
		1 %	++D	++D	++D	++D	++D	++D
		0,1 %	++	++D	++D	++D	++D	++D
		0,01 %	+	+	+	+	+	+
XXIX	9,10-Dihydro- xistearin- säure-Natrium- salz	10 %	++D	++D	++D	++D	++D	++D
		1 %	++D	++D	++D	++D	++D	++D
		0,1 %	+	++D	++D	++D	++D	++D
		0,01 %	-	-	-	+	+	+
XXX	Mono-Polygly- cerinester der Caprylsäure	10 %	++	++D	++D	++D	++D	++D
		1 %	++	++	++	++	++	++
		0,1 %	++	++	++	++	++	++
		0,01 %	-	-	-	+	+	+
XXXI	Mono-Polygly- cerinester der Laurin- säure	10 %	+	++	++	++	++	++
		1 %	+	+	++	++	++	++
		0,1 %	+	+	++	++	++	++
		0,01 %	-	-	-	-	-	-
XXXII	Decaglycerin- monolaurat	10 %	+	++	++	++	++	++
		1 %	+	++	++	++	++	++
		0,1 %	-	++	++	++	++	++
		0,01 %	-	-	-	-	-	-
XXXIII	Mono-Di-Poly- glycerinester der Myristin- säure	10 %	++	++	++	++	++	++
		1 %	++	++	++	++	++	++
		0,1 %	+	+	++	++	++	++
		0,01 %	-	-	-	-	-	-

137  
**1.1.2. Hämolyseverminderung durch Pr teinzusatz**

Zusatz von Gelita-Sol<sup>R</sup>. Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> wurde in einer Lösung von 10 % Gelita-Sol<sup>R</sup> in einer 0,9 %igen NaCl-Lösung gelöst.

Tensidkonzentration	Beurteilung nach				
	sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
10 %	+	++D	++D	++D	++D
1 %	+	+D	++D	++D	++D
0,1 %	+	+D	+D	++D	++D
0,01 %	-	-	-	-	+D

Zusatz von Serumalbumin. Saccharosemonolaurat L-1695<sup>R</sup> wurde in einer Lösung von 10 % Albumin SRK in einer 0,9 %igen NaCl-Lösung gelöst.

Tensidkonzentration	Beurteilung nach				
	sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
10 %	++	++D	++D	++D	++D
1 %	++	++D	++D	++D	++D
0,1 %	-	-	-	-	+D
0,01 %	-	-	-	-	-

Erläuterungen im Abschn. E. 11.2.

**1.1.3. Hämolyse durch Mizellen oder Tensidmonomere**

Konz. an Saccharosemonolaurat L-1695 <sup>R</sup> in 0,9 %iger NaCl-Lösung	Beurteilung nach				
	sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
0,009 % CMC - 18 %	-	-	-	+	+
0,011 % CMC	-	-	+	+	+
0,013 % CMC + 18 %	-	+	+	+	+
0,1 %	++	++	++	++	++D

Konz. an polyethoxiliertem Cholesterin in 0,9 %iger NaCl-Lösung	Beurteilung nach				
	sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
0,001 % CMC - 93 %	-	-	-	-	-
0,014 % CMC	-	++	++	++	++
0,027 % CMC + 93 %	-	++	++	++	++
0,1 %	-	++	++	++	++

Erläuterungen im Abschn. E. 11.1.

### 1.2. Solubilisierkapazitäten verschiedener Tenside bei verschiedenen Konzentrationen

Solubilisierkapazität der Tenside der Tabellen 31-35 (Abschn. E. 12.3.1.), bestimmt nach der im Abschn. E. 12.1.2. beschriebenen Methode bei verschiedenen Solubilisatorkonzentrationen. Die auf ihre Solubilisierkapazität untersuchten Tenside folgen in der in den Tabellen 31-35 aufgeführten Reihenfolge.

Tensid	Konzentration in Wasser [%]	Solubilisierkapazität für Ciclosporin [mg/ml]
Myrij <sup>R</sup> 52	2	2
	5	4
	10	8
	15	15
Solut <sup>R</sup> HS 15	5	4
	10	8
	15	11
	20	15
	30	21
	50	32
12-Hydroxistearinsäure + 18 EO	2	1
	5	3
	10	6
	15	9
Cremophor <sup>R</sup> RH 40	3	3
	5	5
	8	8
	10	10
Ölsäure + 20 EO	2	1
	5	2
	10	4
	15	6
Ölsäure + 41 EO	2	1
	5	3
	10	5
	15	8
Ricinolsäure + 20 EO	2	1
	5	3
	10	6
	15	7
Cremophor <sup>R</sup> EL	3	2
	5	4
	8	7
	10	8,5
	15	13
	20	16
	30	24

Tensid	Konzentration in Wasser [%]	Solubilisierkapazität für Ciclosporin [mg/ml]
Saccharosemonocaprat CEP	5 10 15	6 12 19
Saccharosemono- laurat L-1695 <sup>R</sup>	1 3,5 5 6,5 8 10 15 20	1,5 5,5 8 10 13 16 24 32
Saccharosemonomyri- stat M-1695 <sup>R</sup>	2 5 10	4 8 13
Saccharosemono- stearat CEP *	1 3 5 10	→ 2,8 8,1 13,0 26,6
Saccharosemonooleat CEP	2 5 10	5 13 25
Raffinosemonolaurat CEP	1 5 10	1 7 13,5
Raffinosemonooleat CEP	1 5 10 15	2 10 20 30
Natriumoleat	1 3,5 5 8 10 13 15	14 29 37 56 69 79 95

\* Ciclosporingehalt mittels HPLC in den nach Zentrifugieren klaren Solubilitätslösungen von Saccharosemonostearat CEP bestimmt.

Tensid	Konzentration in Wasser [%]	Solubilisierkapazität für Ciclosporin [mg/ml]
Natriumricinoleat	1	1
	3,5	21
	5	36
	6,4	42
	8	58
	10	95
Kaliumricinoleat	1	5
	3,5	18
	5	32
	6,7	42
	8	55
	10	85
Natriumlaurylsulfat	1	14
	5	53
	10	95
	15	134
	20	160
Desogen <sup>R</sup>	1	3
	3	6
	5	9
	8	13
	10	16
Benzalkoniumchlorid	1	2
	5	12
	10	26
	15	42
	20	57

### 1.3. Viskositätsmessungen

#### 1.3.1. Saccharosem nolaurat L-1695<sup>R</sup>

Viskositätsmessungen in Lösungen von L-1695<sup>R</sup> in Wasser bei Raumtemperatur.

Erläuterungen im Abschn. E. 13.4.

$\tau$  = Schubspannung [Pa]

$\eta$  = dynamische Viskosität [Pa s]

Gerätespezif. Umrechnungs- faktor	Scherges- chwindig- keit D [rpm]	Konzentration L-1695 <sup>R</sup> in Wasser						$\tau$	$\eta$	25 %
		20	10	5 %	$\tau$	$\eta$	20 %			
20	0,3	0,02	0,004							
10	0,6	0,01	0,001	0,01	0,001					
4,0	1,5	0,02	0,0008	0,06	0,0024					
2,0	3,0	0,04	0,0008							
1,0	6,0	0,07	0,0007							
0,5	12,0	0,18	0,0009							
0,2	30,0	0,51	0,001	0,61	0,0012	0,92	0,00182	1,55	0,00308	2,79
0,1	60,0	1,05	0,001							

..3.2. Saccharosemonohydrat n 1695  
 Viskositätsmessungen in Lösungen von M-1695<sup>R</sup> in Wasser bei Raumtemperatur.  
 Erläuterungen im Abschn. E. 13.4.  
 : = Schubspannung [Pa]  
 Η = dynamische Viskosität [Pa s]

Gerätespez. Umrechnungsfakt r	Scherge- schwindig- keit D [rpm]	R in Wasser							
		Konzentration M-1695		2 %		5 %		10 %	
		τ	η	τ	η	τ	η	τ	η
20	0,3	0,01	0,002	0,06	0,012	1,00	0,200	4,03	0,806
10	0,6	0,03	0,003	0,11	0,011	1,88	0,188	8,03	0,803
4,0	1,5	0,06	0,0024	0,28	0,0112	4,66	0,1864		
2,0	3,0	0,12	0,0024	0,58	0,0116	9,35	0,187		
1,0	6,0	0,23	0,0023	1,16	0,0116				
0,5	12,0	0,46	0,0023	2,32	0,0116				
0,2	30,0	1,16	0,00232	5,84	0,0116				
0,1	60,0	2,35	0,00235						

#### 1.4. Lichtstreumessungen

Apparate: - Malvern Particle Analyser Type 7027  
 - Spectra-Physics, Argon-Ionen-Laser, Serie 2000

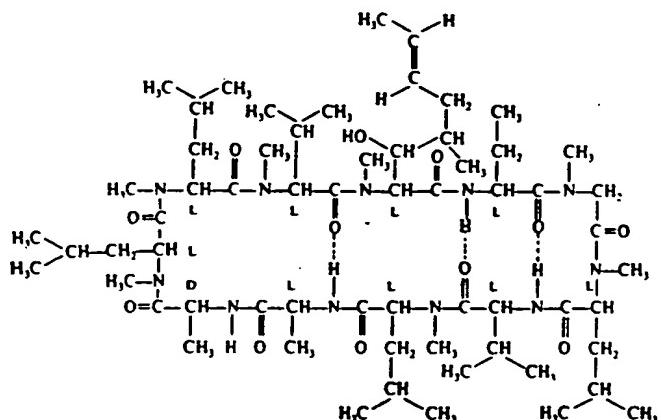
Bedingungen: - Temperatur 20,0°C  
 - Wellenlänge 488 nm  
 - Rayleigh-Verhältnis von Toluol  $4,88 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$   
 - Brechungsindexinkrement  $\frac{dn}{dc} = 0,15 \text{ cm}^3/\text{g}$   
 - Brechungsindex der Lösungen 1,33  
 - Brechungsindex von Toluol 1,494  
 - Viskosität des Lösungsmittels 0,9 %ige NaCl-Lösung 0,001 Pa s  
 - Die Winkelabhängigkeit wurde geprüft an der staub- und partikelfreien 1 %igen Lösung von L-1695<sup>R</sup>. Kein Formfaktor fiel über den ganzen Winkelbereich der Lichtstreuung um mehr als 2 % ab. Der Trägheitsradius der Mizellen war kleiner als 100 Å.

## 2. Vervendete Substanzen

### 2.1. Modellsolubilisate

#### 2.1.1. Ciclosporin

Ciclosporin, auch unter der Bezeichnung Ciclosporin A bekannt, ist ein neutrales cyclisches Polypeptid aus 11 Aminosäuren.



#### Strukturformel Ciclosporin

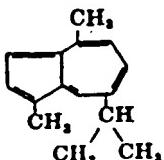
$C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$  MG 1202,635

Ciclosporin ist der Wirkstoff des Handelsproduktes Sandimmun<sup>R</sup> der Firma SANDOZ [44]. Seine Wirkung beruht auf der selektiven und reversiblen Hemmung von immunkompetenten Leukozyten. Sandimmun<sup>R</sup> ist zur Zeit das Mittel der Wahl, um bei Organverpflanzungen Abstossungsreaktionen gegen das körperfremde Gewebe zu verringern, ohne dabei das gesamte Immunsystem des Patienten zu blockieren. Während der Operation und zu deren Vorbereitung wird Ciclosporin als Infusion verabreicht. Die sehr geringe Löslichkeit der Substanz in Wasser, 0,04 mg/ml bei 25°C, bereitet dabei erhebliche Schwierigkeiten [180]. Die i.v.-Form wird derzeit als Konzentrat von 50 mg Ciclosporin, 650 mg Cremophor<sup>R</sup> EL und Ethanol 94 % ad 1 ml hergestellt. Dieses Sandimmun<sup>R</sup> Infusionskonzentrat wird zur Anwendung mit 5 %iger Glucoselösung oder isotonischer Kochsalzlösung auf 1:20 oder 1:100 verdünnt. Die im Abschn. E. 13.3. im in vivo-Versuch den Hunden verabreichte Dosis von 1,5 mg Ciclosporin pro ml entspricht dem Mittelwert dieses Dosisbereiches und einer Verdünnung des Sandimmun<sup>R</sup> Infusionskonzentrates auf 1:33.

Die Sandimmun<sup>R</sup> Trinklösung enthält als Hilfsstoffe 30 % Labrafil<sup>R</sup> M.1944 CS (= umgeesterte und zugleich polyethoxilierte Ölsäureglyceride aus Kernölen [5]), 42,5 % Olivenöl und 10 % Ethanol.

#### 2.1.2. Guajazulen

Guajazulen ist 7-Isopropyl-1,4-dimethylazulen.

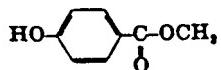


#### Strukturformel Guajazulen

C<sub>15</sub>H<sub>18</sub> MG 198,31

Guajazulen ist im 2. Arzneibuch der DDR offizinell und findet als Antiphlogistikum therapeutische Anwendung. Die Löslichkeit in Wasser bei Raumtemperatur beträgt < 0,1 mg/ml. Guajazulen purissimum der Fluka AG, CH-Buchs wurde mit einer deklarierten Reinheit von > 99 % (GC) verwendet. Guajazulen eignet sich wegen seiner intensiv blauen Farbe als Modellsolubilisat.  $\lambda_{\text{max}}$  in Heptan 284 nm.

#### 2.1.3. p-Hydroxibenzoësäuremethylester

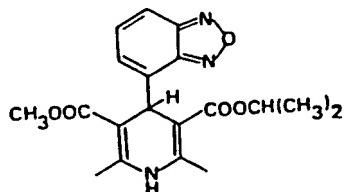


#### Strukturformel p-Hydroxibenzoësäuremethylester

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub> MG 152,2

p-Hydroxibenzoësäuremethylester ist in der Ph. Eur. offizinell und wird in der Praxis als Konservierungsmittel eingesetzt. Die verwendete Substanz entsprach den Anforderungen der Monographie der Ph. Eur.. Die Löslichkeit in Wasser beträgt bei 20°C 2 mg/ml.

#### 2.1.4. Isradipin

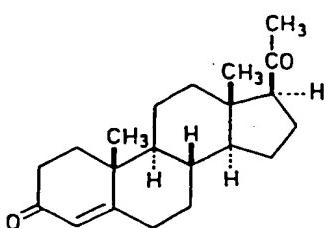


#### Strukturformel Isradipin

C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> MG 371,39

Isradipin ist ein Calciumantagonist. Seine Löslichkeit in Wasser beträgt bei 25°C 0,02 mg/ml. Die Substanz wird bei Sandoz AG, Basel synthetisiert [253].

### 2.1.5. Progesteron



#### Strukturformel Progesteron

$C_{21}H_{30}O_2$  MG 314,5

Progesteron ist in der Ph. Eur. offizinell und wird zur Ergänzung der Estrogentherapie bei Cyclusstörungen eingesetzt. Die verwendete Substanz entsprach den Anforderungen der Monographie der Ph. Eur.. Die Löslichkeit in Wasser beträgt bei Raumtemperatur < 0,1 mg/ml.

### 2.1.6. Proquazon



#### Strukturformel Proquazon

$C_{18}H_{18}N_2O$  MG 278,36

Proquazon ist der Wirkstoff des Handelsproduktes Biarison<sup>R</sup> der Firma WANDER, Bern [44]. Bei diesem Wirkstoff handelt es sich um ein Antiphlogistikum mit ausgeprägten analgetischen Eigenschaften. Die Löslichkeit in Wasser beträgt bei 25°C 0,006 mg/ml.

Die Substanz wird bei SANDOZ AG, Basel synthetisiert.

## 2.2. Tenside

Die in der Arbeit verwendeten und nicht bereits im Text beschriebenen Tenside werden hier unter Angabe des Herstellers, des HLB-Wertes und weiterer Informationen in alphabetischer Reihenfolge genannt. W der HLB-Wert nicht aufgeführt ist, konnte in der Literatur keiner gefunden werden.

### Benzalkoniumchlorid

- Gemisch von Alkyldimethylbenzylammoniumchloriden. Der Alkylrest besteht aus C 8 - C 18 -Ketten.
- Benzalkoniumchlorid N.F. XV purum, Fluka AG, CH-Buchs. Gehalt ~ 90 %.
- Kationisches Tensid.

### Brij<sup>R</sup> 99

- Polyoxiethylen(20)oleylether.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 15,3 [5] [191]

### Cholesterin

- Siegfried AG, CH-Zofingen
- HLB 1 [53]

### Cholesterin, polyethoxiliert

- Reines ethoxiliertes Cholesterin. ~ 24 EO. Etherverbindung.
- Synthetisiert bei SANDOZ AG, Basel.

### Cholesterinhemisuccinat

- SIGMA Chemical Company, St. Louis, USA.

### Cholesterinhemisuccinat, Morpholin-Salz

- SIGMA Chemical Company, St. Louis, USA.
- Anionisches Tensid.

### Cholesterinhemisuccinat, Tris-Salz

- SIGMA Chemical Company, St. Louis, USA.
- Anionisches Tensid.

### Cremophor<sup>R</sup> AP fest

- Polyethylenglykol-400-stearat. Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.
- HLB 11,6 [5] [130]

Cremophor<sup>R</sup> EL

- Polyethoxiliertes Ricinusöl. ~ 40 EO. Gemisch aus Ricinolsäureglycerinpolyglykolestern, Ricinolsäurepolyglykolestern und Glycerinethoxilat [106].
- BASF, D-Ludwigshafen.
- HLB 13,0 [53] [191]
- 13,3 [38] [189]
- 15,8 [5]

Cremophor<sup>R</sup> RH 40

- Polyethoxiliertes hydriertes Ricinusöl. ~ 40 EO. Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.
- HLB 14-16 [5]

Cremophor<sup>R</sup> RH 60

- Polyethoxiliertes hydriertes Ricinusöl. ~ 60 EO. Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.
- HLB 15-17, deklariert vom Hersteller.

Decaglycerinmonolaurat

- Nikko Chemicals Co. Ltd., Tokyo, Japan.
- HLB 16, deklariert vom Hersteller [236].
- Polymerisationsgrad n = 10.

Desogen<sup>R</sup>

- Toloconium-methylsulfat =  $\alpha$ -(p-Tolyl)-dodecyl-trimethylammoniummethosulfat.
- Verwendet wurde die 10 %ige wässrige Konzentratlösung, die als Handelsprodukt unter dem Namen Desogen<sup>R</sup> der CIBA-GEIGY, Basel, erhältlich ist.
- Kationisches Tensid.

Epikuron<sup>R</sup> 200

- Gereinigtes Phosphatidylcholin aus Soya. Lecithin.
- Deklарierter Mindestgehalt: 92 %.
- Lucas Meyer, D-Hamburg.
- HLB 80,0 [5]
- Amphoteres Tensid.

12-Hydroxistearinsäure + 18 EO

- Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.

Invitor® 308

- Caprylsäuremonoglycerid.
- Dynamit Nobel AG, D-Troisdorf.
- Deklarierter Monoestergehalt: nicht weniger als 90 %.

Invitor® 900 K

- Gemisch aus Monoglyceriden (35 %) der Stearin- und Palmitinsäure mit wechselnden Mengen Di- und Triglyceriden.
- Dynamit Nobel AG, D-Troisdorf.
- HLB 3,8, nach Angabe der Ph. Eur. [201]

O-Lauroyl-DL-Carnitin

- DL-Lauroylcarnitin-Chlorid.
- Bio-Science-Products AG, CH-Emmenbrücke.
- Kationisches Tensid.

Mono-Di-Polyglycerinester der Myristinsäure

- Gattefossé, F-Saint-Priest.
- HLB ~ 11, deklariert vom Hersteller.
- Polymerisationsgrad n = 1-7, vorwiegend n = 2 (32 %).

Mono-Polyglycerinester der Caprylsäure

- Gattefossé, F-Saint-Priest.
- HLB ~ 15, deklariert vom Hersteller.
- Polymerisationsgrad n = 1-7, vorwiegend n = 2 (32 %).

Mono-Polyglycerinester der Laurinsäure

- Gattefossé, F-Saint-Priest.
- HLB ~ 14, deklariert vom Hersteller.
- Polymerisationsgrad n = 1-7, vorwiegend n = 2 (32 %).

O-Myristoyl-DL-Carnitin

- DL-Myristoylcarnitin-Chlorid.
- Bio-Science-Products AG, CH-Emmenbrücke.
- Kationisches Tensid.

Myj® 49

- Polyoxiethylen(20)stearat. Esterverbindung.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 15 [5] [191]

Myrij<sup>R</sup> 52

- Polyoxiethylen(40)stearat. Esterverbindung.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 16,9 [5]

Myrij<sup>R</sup> 53

- Polyoxiethylen(50)stearat. Esterverbindung.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 17,9 [5] [134]

Natriumlaurylsulfat

- Natriumdodecylsulfat.
- Siegfried AG, CH-Zofingen.
- HLB ~ 40 [5] [38]

Natriumoleat

- Carl Roth, D-Karlsruhe.
- HLB 18 [189]

Ölsäure + 20 EO

- Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.

Ölsäure + 41 EO

- Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.

Ricinolsäure + 20 EO

- Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.

Saccharosedistearat S-170<sup>R</sup>

- Ryoto Sugar Ester der Mitsubishi-Kasei Food Corporation, Japan.
- Deklarierter Di-, Tri- und Polyesteranteil 100 %.
- HLB 1 [232]
- 4,9 [52]
- 7 [5] [61] [188]

Sacchar seomonolaurat L-1540

- Ryoto Sugar Ester der Mitsubishi-Kasei Food Corporation, Japan.
- Deklarierter Monoesteranteil 70 %.
- HLB 15 [232]

Sacchar seomonolaurat L-1695<sup>R</sup>

- Ryoto Sugar Ester der Mitsubishi-Kasei Food Corporation, Japan.
- Deklarierter Monoesteranteil 80 %.
- HLB 12 [52]
  - 12,3 [5] [190]
  - 13,0 [2] [5] [52] [61] [188] [189]
  - 16 [232]

Saccharosemonomyristat M-1695<sup>R</sup>

- Ryoto Sugar Ester der Mitsubishi-Kasei Food Corporation, Japan.
- Deklarierter Monoesteranteil 80 %.
- HLB 11,7 [5] [159] [189]
  - 12,3 [2]
  - 12,4 [52]
  - 16 [232]

Saccharosemonooleat O-1570<sup>R</sup>

- Ryoto Sugar Ester der Mitsubishi-Kasei Food Corporation, Japan.
- Deklarierter Monoesteranteil 70 %.
- HLB 10,7 [5] [189]
  - 11,2 [2] [52] [61]
  - 15 [232]

Saccharosemonopalmitat P-1670<sup>R</sup>

- Ryoto Sugar Ester der Mitsubishi-Kasei Food Corporation, Japan.
- Deklarierter Monoesteranteil 80 %.
- HLB 11,1 [189]
  - 11,7 [2] [5] [61]
  - 13,5 [52]
  - 16 [232]

Sacchar sem n stearat S-1670<sup>R</sup>

- Ryot Sugar Ester der Mitsubishi-Kasei Food Corporation, Japan.
- Deklарierter Monoesteranteil 75 %.
- HLB 10,6 [5] [189]
  - 11,2 [2] [61]
  - 12,5 [52]
  - 16 [232]

Solutol<sup>R</sup> HS 15

- Polyethoxilierte 12-Hydroxistearinsäure. ~ 12 EO. Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.

Span<sup>R</sup> 20

- Sorbitanmonolaurat.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 8,6 [5]

Span<sup>R</sup> 60

- Sorbitanmonostearat.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 4,7 [5] [38] [130] [189]

Span<sup>R</sup> 85

- Sorbitantrioleat.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 1,8 [5] [38] [130] [189]

Stearinsäure + 15 EO

- Esterverbindung.
- BASF, D-Ludwigshafen.
- HLB 13,5 [5]

Tween<sup>R</sup> 20

- Polyoxiethylen(20)sorbitanmonolaurat. Ein Gemisch von Partialestern des Sorbits und seiner Anhydride mit Laurinsäure, kopolymerisiert mit annähernd 20 Mol Ethylenoxid für jedes Mol Sorbit und Sorbitanhydrid. Die zur Veresterung verwendete Laurinsäure kann andere Fettsäuren enthalten.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 16,7 [5] [38] [130] [189] [201]
- Qualität der Ph. Eur.

Tween® 40

- Polyoxiethylen(20)sorbitanmonopalmitat.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 15,6 [38] [189] [201]

Tween® 60

- Polyoxiethylen(20)sorbitanmonostearat.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 14,9 [38] [189] [201]
- Qualität der Ph. Eur.

Tween® 61

- Polyoxiethylen(4)sorbitanmonostearat.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 9,6 [5] [38] [201]  
10,1 [5]

Tween® 80

- Polyoxiethylen(20)sorbitanmonooleat.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 15,0 [38] [130] [136] [189] [201]
- Qualität der Ph. Eur.

Tween® 85

- Polyoxiethylen(20)sorbitantrioleat.
- Atlas Chemie, D-Essen.
- HLB 11,0 [5] [38] [201]

Lebenslauf

- 1959 Am 15. Dezember wurde ich als Sohn des Otto und der Beatrice Hahn-Tanner in Lachen (SZ) geboren. Zusammen mit meinem Bruder und meiner Schwester bin ich im Elternhaus in Siebnen (SZ) aufgewachsen.
- 1966-1972 Primarschule in Siebnen.
- 1972 Sekundarschule in Siebnen.
- 1972-1979 Gymnasium am Christ-König-Kollegium in Nuolen (SZ) und Abschluss mit der Matura Typus B.
- 1979 Rekrutenschule.
- 1979-1985 Pharmaziestudium an der Universität Bern, einschliesslich einjähriges Praktikum in der Apotheke in Küschnacht (ZH) unter der Leitung von Herrn H. Hotz, sowie halbjähriges Praktikum in der Spitalapotheke des Stadtspitals Triemli-Zürich unter der Leitung von Herrn Dr. R. Dolder.
- 1985 Abschluss des Pharmaziestudiums mit dem Staatsexamen am 3. Juni 1985. Abverdienen des Leutnant-Grades in einer Spital-Sanitäts-Rekrutenschule.
- 1986-1988 Durchführung der vorliegenden Dissertation als Doktorand der Universität Basel unter der Leitung von Prof. Dr. H. Sucker bei der Firma SANDOZ AG in Basel. Militärische Weiterausbildung zum Kompaniekommendant in der Zentralschule I/C.

Während der Ausbildungszeit besuchte ich die Vorlesungen und Praktika folgender Professoren und Dozenten:

Universität Bern:

Aebi H., Brenneisen R., Clerc J.T., Höltje H.D., Krähenbühl U., Lang G., Lebek G., McGuigan J., Reuter H., Schumacher E., Soliva M., Tüller N., Winkler W.

Universität Basel:

Asche H., Bombach G., Eckert H., Eckert V., Kissel Th., Steffen H., Wall M., Zwicky R.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**